

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. mult. T. Ruzicka

## **Acne inversa**

# **Genotypische und phänotypische Einflussfaktoren unter besonderer Berücksichtigung der molekulargenetischen Untersuchung der $\gamma$ -Sekretase**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Mark Alexander Baumgärtner

aus

Stuttgart

2018

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatlerin: Prof. Dr. med. Kathrin Giehl

Mitberichterstatler: PD Dr. Tim M. Strom

Mitbetreuung durch die

promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. med. Dr. h.c.mult. Gerd Plewig

Dr. rer. nat. Gertrud Eckstein

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 15.05.2018

## Eidesstattliche Versicherung

Baumgärtner, Mark Alexander

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Acne inversa

Genotypische und phänotypische Einflussfaktoren unter besonderer  
Berücksichtigung der molekulargenetischen Untersuchung der  $\gamma$ -Sekretase

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 01.08.2018

Mark Baumgärtner

---

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand

Meinen Eltern

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
2	Hintergrund .....	3
2.1	Acne inversa oder Hidradenitis suppurativa.....	3
2.2	Epidemiologie.....	4
2.3	Klinischer Befund.....	4
2.4	Diagnose .....	6
2.5	Differentialdiagnosen .....	6
2.6	Einteilung in Schweregrade .....	7
2.7	Pathogenese .....	8
2.8	Risikofaktoren .....	10
2.8.1	Rauchen .....	10
2.8.2	Übergewicht .....	11
2.8.3	Hormone und Medikamente .....	12
2.8.4	Bakterien .....	13
2.9	Komplikationen und einhergehende Erkrankungen .....	14
2.10	Therapiemöglichkeiten.....	15
2.10.1	Konventionelle Therapie .....	16
2.10.2	Operative Therapie .....	18
2.11	Mutationen der $\gamma$ -Sekretase - Eine Erklärung für die Pathogenese?.....	20
2.11.1	Der Notch-Signalweg und der Einfluss der $\gamma$ -Sekretase .....	20
2.11.2	Sind Notch-Fehlfunktionen verantwortlich für den chronischen Entzündungs- verlauf bei Acne inversa? .....	21
2.11.3	Eingeschränkte Feedback Regulation über Notch-MKP-1?.....	22
2.12	Mit Acne inversa assoziierte Syndrome (PAPA, PASH, PAPASH) .....	22
3	Material und Methoden .....	25
3.1	Material.....	28
3.1.1	Verwendete Geräte .....	28
3.1.2	Verwendete Enzyme .....	28
3.1.3	Nukleotide und Nukleinsäuren.....	28
3.1.4	Chemikalien .....	28
3.1.5	Fertigkits.....	29
3.1.6	Lösungen .....	29
3.2	Methoden.....	30

## Inhaltsverzeichnis

---

3.2.1	DNA-Extraktion aus EDTA-Blut .....	30
3.2.2	Konzentrationsmessung der DNA-Proben .....	30
3.2.3	Herstellung der Verdünnung .....	30
3.2.4	Herstellung des Ansatzes für die PCR .....	30
3.2.5	Polymerasekettenreaktion (PCR) .....	31
3.2.6	PCR-Programm .....	32
3.2.7	Agarose-Gelelektrophorese .....	33
3.2.8	Auswertung .....	33
4	Ergebnisse .....	40
4.1	Ergebnisse des Fragebogens .....	40
4.1.1	Erstauftreten und Verwandtschaftsbezug .....	40
4.1.2	Körpergewicht .....	41
4.1.3	Betroffene Körperstellen .....	43
4.1.4	Zigarettenkonsum .....	44
4.1.5	Acne vulgaris im Jugendalter .....	45
4.1.6	Hauterkrankungen, Allgemeinerkrankungen und Allergien .....	45
4.1.7	Therapien .....	46
4.2	Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung .....	48
4.2.1	Ergebnisse der Sequenzierung (Gruppe „M“) .....	48
4.2.2	Ergebnisse der Kopplungsanalyse (Gruppe „F“) .....	48
5	Diskussion .....	52
5.1	Diskussion der Ergebnisse des Fragebogens .....	52
5.2	Diskussion der Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung .....	58
6	Zusammenfassung .....	63
7	Abbildungsverzeichnis .....	65
8	Tabellenverzeichnis .....	66
9	Abkürzungsverzeichnis .....	67
10	Literaturverzeichnis .....	68
11	Anhang: Fragebogen .....	76
12	Danksagung .....	84

## 1 Einleitung

Das Krankheitsbild der Acne inversa ist geprägt von chronischen Entzündungen der intertriginösen Hautareale, vor allem im Achsel- und Leistenbereich. Neben der chronischen Entzündung sind akute Exazerbationen und Remissionen typisch. Oft finden sich Abszesse und weitläufige Sinusformationen mit eitrigem Sekret. Nach Abklingen der Entzündung ist das Gewebe meist nachhaltig geschädigt, so dass durch Fibrosierung langgezogene Narbenstränge entstehen, die gerade in den Hautfalten die Mobilität deutlich einschränken und erschweren.

Sowohl Ursache als auch genaue Pathogenese sind bis heute nicht abschließend geklärt, weshalb auch therapeutische Ansätze nicht immer den erhofften Erfolg bringen. Die wechselnde Bezeichnung der Erkrankung von ehemals Hidradenitis suppurativa zu Acne inversa spiegelt diesen Zustand in gewissem Maße wider. Die Bezeichnung Hidradenitis suppurativa entstand in der Vergangenheit, in der Annahme der Erkrankungsursprung liege in den apokrinen Schweißdrüsen. In der Literatur wird jedoch akzeptiert, dass der Erkrankung eine Entzündung der Terminalhaarfollikel zugrunde liegt. Plewig und Steger wählten die Bezeichnung Acne inversa (Plewig und Steger, 1989). Häufig wird die verbindende Bezeichnung Acne inversa/Hidradenitis suppurativa verwendet, womit die pathophysiologischen Unklarheiten der Erkrankung noch zusätzlich hervorgehoben werden.

Im Hinblick auf langfristig erfolgreiche therapeutische Maßnahmen ist es notwendig zu erforschen, welche Ursache die Erkrankung hat, zumal Acne-inversa-Patienten oftmals einem hohen psychischen und physischen Leidensdruck ausgesetzt sind. Die Erkrankung empfinden Betroffene als unangenehm und stigmatisierend. Da sie sich auch im genito-analen Bereich manifestiert, wird sie oft verschwiegen. Die Prävalenz liegt, je nach Quelle, zwischen 1 bis 4% (Scheinfeld, 2013; van der Zee, 2013; Gisondi und Girolomoni, 2013; Jemec, 2012).

Hinsichtlich der Ätiologie wird ein Zusammenspiel von multiplen Faktoren vermutet. Neben Rauchen, Übergewicht, Hormonen und Stresseinwirkungen werden genetische Faktoren diskutiert, da von familiären Fällen berichtet wurde (Fitzsimmons et al., 1985; von der Werth et al., 2000; Zhou et al., 2016).

Im Jahr 2010 wurden von Wang et al. mehrere Loss-of-function-Mutationen bei chinesischen Familien mit Acne inversa in der Familienanamnese beschrieben. Diese Mutationen betreffen die Gene *PSENEN*, *PSEN1* und *NCSTN*. Sie sind verantwortlich für den Bau der  $\gamma$ -Sekretase,

ein Transmembranprotein, das für die Kommunikation und den Strukturerhalt von Zellen zuständig ist (Wang et al., 2010).

Bei einem Patienten, der inguinal und skrotal typische Acne-inversa-Läsionen zeigte, wurde bei einer molekulargenetischen Untersuchung am Helmholtz Zentrum München eine Deletion im Exon 1 des *NCSTN* Gens ((NM\_015331): c.38delG, p.(G13Efs\*15)) beobachtet. Die Datenbank ExAC gibt für das Gen *NCSTN* einen pLI score (probability of loss-of-function intolerance) von 1,00 an, was bedeutet, dass das Gen *NCSTN* statistisch eine Intoleranz gegenüber Loss-of-function-Varianten hat.

An diese Untersuchungsergebnisse knüpft die vorliegende Arbeit an. Ziel der Dissertation ist es, mögliche krankheitsauslösende Faktoren bei Acne inversa zu ermitteln. In diesem Zusammenhang soll das Erbgut von Acne-inversa-Patienten, mit und ohne familiäre Häufung, auf genetische Varianz im Bereich der für die  $\gamma$ -Sekretase kodierenden Gene untersucht werden.

23 Patienten werden mittels Sanger Sequenzierung auf genetische Varianz in den codierenden Regionen der Gene *APH1A*, *APH1B*, *PSENEN*, *PSEN1*, *PSEN2* und *NCSTN* untersucht.

Zudem wird ein Fragebogen erhoben, um gezielt nach möglichen Risikofaktoren zu suchen, die im Verdacht stehen, eine Rolle bei der Krankheit zu spielen. Dazu werden neben den untersuchten 23 Patienten eine Familie (n = 12) mit 8 Acne-inversa-Betroffenen und 8 weitere Acne-inversa-Patienten ohne bekannte Familienanamnese befragt. Bei der Familie wurde zudem eine Kopplungsanalyse veranlasst, welche eine Grundlage für weitere Untersuchungen bilden soll. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen dazu beitragen, das Verständnis der Erkrankung weiter zu klären und damit langfristig eine erfolgreiche Behandlung zu ermöglichen.



## 2 Hintergrund

### 2.1 Acne inversa oder Hidradenitis suppurativa

Acne inversa (Synonym: Hidradenitis suppurativa, Pyoderma fistulans significa, Verneuil's Krankheit) ist eine Erkrankung, deren genaue Ätiologie bis heute unklar ist. Der französische Chirurg Alfred Velpeau beschrieb die Erkrankung erstmals im Jahre 1839, welche gekennzeichnet war von „ungewöhnlichen Prozessen“ im Bereich der Achseln, der mammären und perianalen Körperregionen (Velpeau, 1839).

Über die Krankheitsursachen wird bereits weit über ein Jahrhundert diskutiert. Im Jahre 1864 stellte Astride Verneuil, ein französischer Chirurg, die Vermutung auf, die primäre Ursache für Acne inversa sei eine Entzündung der Schweißdrüsen. Er bezeichnete sie als Hidradenitis suppurativa (Verneuil, 1864).

1951 zeigte Kierland Zusammenhänge zwischen Hidradenitis suppurativa und Acne conglobata, sowie der „dissecting cellulitis“ der Kopfhaut auf. Er entdeckte, vermutlich als einer der Ersten, dass die Krankheitsmanifestation nicht ausschließlich auf mit apokrinen Schweißdrüsen besetzte Hautareale beschränkt war (Kierland, 1951).

1956 führten Kligman, Pillsbury und Shelley die Bezeichnung „Follikuläre Okklusions Triade“ ein. Sie fassten die Krankheitsbilder von Acne conglobata, „dissecting cellulitis“ der Kopfhaut und Hidradenitis suppurativa zu diesem Begriff zusammen, da sie die enge Relation der Erkrankungen zueinander erkannten (Brunsting, 1952). Plewig und Kligman erweiterten diese Klassifikation nochmals. Sie rechneten den Pilonidalsinus zu dieser Gruppe, was zur neuen Bezeichnung „Follikuläre Okklusions Tetrade“ führte (Plewig und Kligman, 1993).

Plewig und Steger erkannten das Besondere der Krankheit in Bezug auf ihre klinische Manifestation. Im Unterschied zur Acne vulgaris, zu deren typischen Läsionsarealen Gesicht und Rumpf gehört, sind bei der Hidradenitis suppurativa die intertriginösen Areale betroffen. Sie führten daher den Terminus Acne inversa ein (Plewig und Steger, 1989).

Plewig hob erstmals hervor, Acne inversa sei primär eine Erkrankung der Terminalhaarfollikel und somit könne die Entzündung der apokrinen Schweißdrüsen lediglich eine Folgeerscheinung des Krankheitsverlaufes sein (Jansen und Plewig, 1998; Plewig, 2003). Aktuell wird die Bezeichnung „dissecting terminal hair folliculitis“ vorgeschlagen, da von einer initialen autoinflammatorischen Erkrankung der Terminalhaarfollikel ausgegangen wird (Chen und Plewig, 2017).

### 2.2 Epidemiologie

Bezogen auf die Gesamtbevölkerung Europas wird von einer Prävalenz von 1 bis 4 % ausgegangen (Scheinfeld, 2013; van der Zee, 2013; Gisondi und Girolomoni, 2013). Das erstmalige Auftreten kann mit Beginn der Pubertät einhergehen, jedoch auch in fortgeschrittenem Alter auftreten (Breuninger und Wienert, 2001). Revuz et al. geben die durchschnittliche Erstmanifestation in einem Alter von 23 Jahren an (Revuz et al., 2008). In einer Studie aus dem Jahr 2000 wurde ein Durchschnittsalter von 21,8 Jahren ermittelt und darauf verwiesen, dass trotz eines Krankheitsverlaufs von durchschnittlich 19 Jahren bei einem Viertel der untersuchten Patienten keine adäquate Therapie erfolgte (von der Werth und Williams, 2000).

Die Erkrankung betrifft beide Geschlechter und alle Volksgruppen (Jansen und Plewig, 1998). In der Literatur wird der Anteil von Männern und Frauen unterschiedlich angegeben. In einigen Studien sind Männer häufiger von Acne inversa betroffen (Canoui-Poitaine et al., 2009; Mebazaa et al., 2009; Wiltz et al., 1990). Andere Untersuchungen ergeben einen deutlich höheren Frauenanteil (Jemec et al., 1998). In einer groß angelegten amerikanischen Untersuchung mit 7.927 Patienten lag der Frauenanteil bei 74 %. Jedoch lag der Anteil der Studienteilnehmer, bei denen Acne inversa klinisch diagnostiziert wurde, bei lediglich 0,053 % (Cosmatos et al., 2013). Bei Männern scheint die Ausprägung und Schwere der Erkrankung oft deutlich stärker zu sein. Eine Untersuchung an 302 französischen Patienten ergab einen mittleren Sartorius Score von 20,5 bei Männern im Vergleich zu 16,5 bei Frauen (Canoui-Poitaine et al., 2009).

Bei beiden Geschlechtern manifestiert sich die Krankheit mit unterschiedlicher Häufigkeit auf bestimmten Hautarealen. Frauen scheinen tendenziell eher im Bereich der Axillen und des Torsos betroffen zu sein, wohingegen Männer häufiger Läsionen im perinealen und perianalen Bereich zeigen (Vazquez et al., 2013).

### 2.3 Klinischer Befund

Der Entzündungsgrad und das klinische Bild variieren stark. Im Frühstadium zeigen sich klinisch schmerzhaftes Follikulitiden, Abszesse und subkutane Knoten an den Prädispositionsstellen (Mühlstädt et al., 2013; Bergler-Czop et al., 2015). Diese Knoten können in fortgeschrittenem Stadium zu Abszessen konfluieren. Das klinische Bild der Acne inversa wird von Abszessen, follikuläre Papeln, Pusteln und Fistelgängen geprägt. Jansen und Plewig

beschreiben Fistelgänge, die sich „Fuchsbau-artig“ durch die intertriginösen Areale ziehen (Jansen und Plewig, 1998). Die Fistelöffnungen sezernieren ein seröses, blutig-eitriges Sekret (Breuninger und Wienert, 2001). Das gerade bei schweren Erkrankungsverläufen vermehrt abgesonderte fötide Material ist für viele Patienten eine starke psychische und hygienische Belastung (Mühlstädt et al., 2013).

Häufig sind die entzündeten Hautareale umgeben von Narbengewebe als Folge des chronischen Verlaufs der Erkrankung. Die hohe Rezidivneigung sorgt für eine zunehmende Fibrosierung der betroffenen Bereiche (Bergler-Czop et al., 2015). Folgen sind Bewegungseinschränkungen, die insbesondere in der Region der Hautfalten ein Problem darstellen. Es kann zu schmerzhaften Narbenkontrakturen kommen (Breuninger und Wienert, 2001).

Die Entzündungen manifestieren sich in den intertriginösen Hautarealen, vor allem in axillaren, inguinalen und anogenitalen Regionen. Diese Bereiche weisen eine hohe Dichte an apokrinen Schweißdrüsen und Terminalhaarfollikeln auf (Bergler-Czop et al., 2015).

Ein auffälliges Merkmal der Acne inversa ist die meist klare Beschränkung auf die entsprechenden Hautareale (Zouboulis et al., 2012). Die am häufigsten befallenen Stellen sind Achseln und Inguinalbereich. Inguinal zieht sich die Läsion meist bis zum Skrotum beziehungsweise Mons pubis (Jansen und Plewig, 1998). Es können Brust und Gesäß betroffen sein, wobei sich die entzündlichen Läsionen im Brustbereich vor allem submammär zeigen (Naasan und Affleck, 2015).

Auch im Nacken und auf der Kopfhaut wurden Fälle von Acne inversa beobachtet. Ein besonderes Problem stellen die Läsionen im perinealen und perianalen Bereich dar. Der ständige Schmerz beim Sitzen und bei Bewegung führt bei den Betroffenen zu einer hohen Leidenstoleranz (Jansen und Plewig, 1998).

Histologische Befunde zeigen anfangs eine Hyperkeratose und Hyperplasie des Haarfollikelepithels. Der Beginn der Pathogenese wird im unteren Abschnitt des Infundibulums beobachtet (Kurzen et al., 2008; von Laffert et al., 2010).

In einem späteren Stadium kann es zur Ruptur der Follikel mit Entzündungsinfiltraten kommen. Ekkrine Drüsen zeigen zunächst keine Beteiligung am Entzündungsgeschehen. Ihr Ausführungsgang endet mit dem Akrosyngium an der Epidermisoberfläche. Der Ausführungsgang der apokrinen Drüsen führt in den oberen Follikelabschnitt (Heckmann et

al., 2012). Die apokrinen Drüsen bleiben zunächst unverändert. Oftmals ist auch in späteren Stadien keine Beteiligung erkennbar. Die destruktiven Prozesse der Acne inversa wurde auch auf Hautflächen ohne apokrine Drüsen, zum Beispiel der Kopfhaut, beobachtet (Plewig und Kligman, 2000). Bei weiterem Fortschreiten der Entzündung bilden sich Abszesse. Diese können sich bis ins subkutane Gewebe erstrecken. Weiter sind Fistelgänge, Fibrosierung der Dermis und teilweise des subkutanen Gewebes erkennbar. Zeigen sich zu Beginn im Gewebe vor allem Neutrophile Granulozyten, werden im weiteren Verlauf zunehmend Mastzellen und T-Lymphozyten nachgewiesen (Bergler-Czop et al., 2015; Scheinfeld, 2013).

### 2.4 Diagnose

Labortests konnten eine Erhöhung der Zytokine IL-1 $\beta$ , -10, -11, -17A, BLC, CXCL9 (MIG) und einen relativen Mangel von IL-20 und -22 feststellen (van der Zee et al., 2012; Wolk et al., 2011). Im Blutserum von Acne-inversa-Patienten finden sich erhöhte Werte von S100A8/A9 (Myeloid-Marker) und sIL-2R (Calprotectin). Bisher lässt sich jedoch kein Zusammenhang zwischen erhöhten S100A8/A9 und sIL2R Werten und der Schwere der Krankheit mit dem Hurley-Score nachweisen (Wieland et al., 2013). Erhöhtes C-reaktives Protein ist ein obligates Zeichen. Die Diagnose wird anhand der Anamnese den typischen klinischen Befunden gestellt (Zouboulis et al., 2012). Im Frühstadium kann histologisch eine follikuläre Hyperkeratose nachgewiesen werden (von Laffert et al., 2010). Bei fortgeschrittener Entzündung ist das histologische Bild durch Abszesse, Granulome und Zysten sowie Perifollikulitis gekennzeichnet. Zudem finden sich Sinusformationen mit Proliferation des Epithels und fibroisiertes Gewebe (Yu und Cook, 1990).

### 2.5 Differentialdiagnosen

Acne inversa sollte von anderen Erkrankungen unterschieden werden, die eine ähnliche Symptomatik zeigen (Zouboulis et al., 2012). Hierzu zählen:

- Abszesse
- kutane Manifestationen bei Morbus Crohn
- Staphylokokken-Infektion der Haut
- Chlamydia trachomatis Infektion (Lymphogranuloma venereum)

## 2.6 Einteilung in Schweregrade

Der Schweregrad der Erkrankung lässt sich nach Hurley in die Stadien 1 bis 3 einteilen (Hurley, 1989). Diese Klassifikation ist eine subjektive Einteilung, die über Kriterien wie Ausprägung von Abszessen und Fibrosierung die Schwere der Krankheit ermitteln soll. In Abbildung 1 sind die Kriterien der Stadien dargestellt.

Grade I	Abscess formation, single or multiple, without sinus tracts or cicatrization
Grade II	Recurrent abscesses, with sinus tract formation and cicatrization; single or multiple, widely separated lesions
Grade III	Diffuse or near-diffuse involvement, or multiple interconnected tracts and abscesses across entire area

Abbildung 1: Hurley-Score (Canoui-Poitaine et al., 2009)

Eine weitere Einteilungsmethode liefert die modifizierte Bewertung nach Sartorius. Dieses Bewertungssystem lässt eine differenziertere Ermittlung des Schweregrades zu und schließt im Vergleich zur Hurley Klassifikation deutlich mehr Faktoren in die Bewertung mit ein (Abbildung 2) (Zouboulis et al., 2012).

	No.	Coefficient	Total
1. Anatomic region involved: armpit, breast, inguinofemoral, perianal, and perineal		×3	
2. Lesions			
Nodules		×2	
Abscesses or fistulas		×4	
Hypertrophic scars		×1	
Other (eg, folliculitis, pustules)		×0.5	
3. Longest distance between two relevant lesions or size if only one lesion <5 cm = 2; <10 cm = 4; ≥ 10 cm = 6; no active lesion = 0		×1	
4. Are all lesions clearly separated by normal-appearing skin? yes = 0; no = 6		×1	
Total			

Abbildung 2: Sartorius-Score modifiziert von Revuz (Revuz, 2007, Canoui-Poitaine et al., 2009)

### 2.7 Pathogenese

Die genaue Pathogenese der Acne inversa ist bis heute nicht geklärt. Anfangs wurde eine Erkrankung der Schweißdrüsen, genauer der apokrinen Drüsen, vermutet, woraus die Bezeichnung Hidradenitis suppurativa (Entzündung der Schweißdrüsen) hervorging (Pink et al., 2012). Eine andere Veröffentlichung sieht die Entzündung der apokrinen Schweißdrüsen eher als sekundäres Phänomen an (Boer und Weltevreden, 1996).

Plewig und Steger wiesen 1989 eine Okklusion der Haarfollikelöffnungen bei Acne-inversa-Patienten nach. Die Erkenntnis über die Beteiligung der Haartalgdrüseneinheit und der damit pathophysiologisch missverständliche Begriff Hidradenitis suppurativa, führte zur Bezeichnung Acne inversa. Acne inversa und Hidradenitis suppurativa werden in der Literatur oftmals synonym genannt (Plewig und Steger, 1989).

Pathophysiologisch wird von einer follikulären Einengung des oberen Haarfollikelanteils durch epitheliale Hyperkeratose und Hyperplasie ausgegangen (von Laffert et al., 2011; Emelianov et al., 2012; Alikhan et al., 2009; Danby und Margesson, 2010). Die Hyperkeratose und die darauffolgende Follikelentzündung führen schließlich zum Anschwellen und Zerreißen des Follikels (von Laffert et al., 2011).

Ein Zusammenspiel aus verschiedenen Umweltfaktoren, vor allem Rauchen und Übergewicht, begünstigt die Krankheitsentstehung (van der Zee et al., 2012). Auch genetische Faktoren stehen im Verdacht, Acne inversa auszulösen (Kapitel 2.11). Bakterien der Haut fördern die Entzündung, die durch Keratinozyten vorangetrieben wird. Sie produzieren reaktionär antimikrobielle Peptide (AMPs) und proinflammatorische Zytokine (van der Zee et al., 2012). Der bakterielle Einfluss auf die Pathogenese ist nicht geklärt. Eine Studie sieht jedoch einen Zusammenhang zwischen dem Ungleichgewicht des Mikrobioms der Haut und Acne inversa (Kapitel 2.8.4) (Ring et al., 2017).

Noch vor den ersten klinischen Anzeichen lassen sich erhöhte Werte an T-Zellen und Mastzellen im umliegenden Gewebe feststellen. Diese sezernieren Chemokine und Cytokine. Van der Zee et al., 2011 konnten erhöhte Werte von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-10 bei Acne-inversa-Patienten ermitteln (van der Zee et al., 2011).

Insbesondere bei Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf (Hurley-Stage 2 und 3) wurden stark erhöhte TNF- $\alpha$  Werte gemessen (Matusiak et al., 2009). Ein 2012 veröffentlichter Artikel von Emelianov und Mitarbeitern beschreibt erhöhte Cathelicidin (LL-37) Werte. LL-37 wird von Schweißdrüsen produziert (Emelianov et al. 2012). In akuten Wunden ist die

LL-37 Expression stark erhöht. Die Produktion sinkt bei chronischem Verlauf (Grönberg et al., 2011).

Diese zunächst unauffälligen Entzündungsvorgänge seien wahrscheinlich ursächlich für die Hyperplasie und Hyperkeratose des Follikels - genauer des follikulären Infundibulums (von Laffert et al., 2010). Kurzen und Mitarbeiter vertreten die Ansicht, dass auch Sexualhormone eine ursächliche Rolle bei der Okklusion des Infundibulums spielen könnten (Kurzen et al., 2008).

Der blockierte Anteil im Bereich des Haarfollikelausgangs fördere die Bildung eines Komedon. Der Follikel würde aufgrund der zunehmenden Dehnung und Schwächung des Epithels reißen. Epithelbestandteile würden sich in der umliegenden Dermis verteilen (van der Zee et al., 2012).

Durch im Gewebe freiliegende Keratinanteile und in Folge bakterieller Superinfektion käme es anschließend zu einer stark abszedierenden Entzündung (Mühlstädt et al., 2013).

Die Entzündung nach der follikulären Ruptur wird in einigen Studien auch dem Vorkommen von Staphylokokken zugeschrieben (Kurzen et al., 2008). Koagulasenegative Staphylokokken und *Escherichia coli* nehmen wahrscheinlich nur eine sekundäre Rolle bei der Entzündung ein. So konnten Sartorius und Kollegen bei Acne-inversa-Patienten mit akuten Entzündungen keine *Staphylococcus-aureus*-Besiedelung in den Läsionen feststellen (Sartorius et al., 2012).

Es wird vermutet, dass das NLRP3 Inflammasom eine wichtige Rolle im Pathomechanismus einnehmen könnte. Die nach der Ruptur freiliegenden Keratinfasern könnten das Inflammasom aktivieren. Dieses produziere vermehrt proinflammatorisches IL-1 $\beta$ . Da eine vollständige Beseitigung des freiliegenden Keratins nicht erfolge, würde die Erkrankung einen chronischen Verlauf nehmen. Versprengte Keratinozyten und Epithelreste würden proliferieren und Fistelgänge ausformen. Durch diese gelängen Bakterien schließlich in tiefere Hautschichten und somit käme es zu einer Ausbreitung der Entzündung (van der Zee et al., 2012).

Das im tieferen Gewebe befindliche entzündliche Infiltrat setze sich zusammen aus Mastzellen, CD3-positiven T-Lymphozyten, CD138-positiven Plasmazellen und aus Faktor XIIIa-positiven dendritischen Zellen (Wollina et al., 2013).

Auch Neutrophile Granulozyten und Makrophagen würden sich in den Läsionen finden. Bei fortschreitender Entzündung wären vor allem C20-positive und CD79a-positive Zellen nachzuweisen (van der Zee et al., 2012).

## 2.8 Risikofaktoren

Nach aktuellem Forschungsstand wird angenommen, dass Acne inversa eine multifaktoriell bedingte Erkrankung ist, wobei individuellen Prädispositionen eine besondere Rolle beigemessen wird. Im Folgenden werden Faktoren, die mit der Krankheit in Verbindung gebracht werden, näher dargestellt.

### 2.8.1 Rauchen

In einer groß angelegten epidemiologischen Studie gaben über 70 % der Acne-inversa-Patienten an, regelmäßig zu rauchen (Revuz et al., 2008). In einer weiteren Studie aus Deutschland waren bis zu 90 % der Erkrankten Raucher (König et al., 1999). Es konnte nachgewiesen werden, dass Acne-inversa-Patienten einen schwereren Krankheitsverlauf zeigten, wenn sie regelmäßig Zigaretten konsumierten (Sartorius et al., 2009).

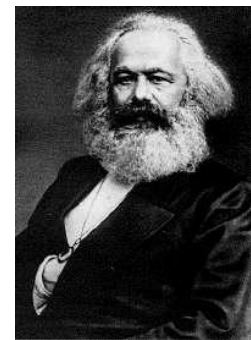


Abbildung 3: Der wohl prominenteste Patient, der unter "Smoker boils" litt; Karl Marx (Happle und König, 2008)

Zigarettenrauchen wird als starker Triggerfaktor bei Acne inversa angesehen. Bis dato ist jedoch nicht eindeutig erwiesen, dass das Einstellen des Zigarettenkonsums zu einer Verbesserung des Krankheitsbilds führen würde (König et al., 1999).

Unter den Toxinen des Zigarettenrauchs richtet sich der Verdacht auf das Nikotin. Nikotin wird über den Schweiß abgesondert und kann dort durch eine erneute Absorption, die durch aufeinanderliegende Hautflächen gefördert wird, in relativ hohen Konzentrationen vorkommen (Hana, 2007). In der Pathogenese der Acne inversa ist Nikotin nach heutigen Erkenntnissen wie folgt involviert:

Nikotin hat einen stimulierenden Effekt auf das *Staphylococcus-aureus*-Wachstum, indem es die antimikrobielle Aktivität vieler Bakterien inhibiert und somit die Keimflora zugunsten des *Staphylococcus aureus* beeinflusst (Pavia et al., 2000).



Nikotin agiert als Ligand der nikotinischen Acetylcholinrezeptoren (Hana et al., 2007). Es ist bekannt, dass viele Zellen, die in Acne-inversa-Läsionen gefunden werden, über Acetylcholin-Rezeptoren verfügen (Keratinocyten, Sebozyten, neutrophile Granulozyten, Mastzellen, Lymphozyten) (Kurzen et al., 2007 und 2008). *Staphylococcus aureus* fördert ebenfalls eine erhöhte ACh-Produktion durch eine gesteigerte Aktivität der Cholinacetyltransferase (ChAT) (Kawashima und Fujii, 2003; Hana, 2007).

Kurzen und Mitarbeiter konnten starke ChAT-Immunreaktionen am Haarfollikel-Infundibulum feststellen und sprechen in diesem Zusammenhang von einer Art Circulus vitiosus, da durch Nikotin neben der ACh-Produktion auch das *Staphylococcus-aureus*-Wachstum angeregt wird. Somit entsteht ein System mit positiver Rückkopplung. Stimulierte ACh-Rezeptoren fördern wiederum Epithelhyperplasien (Kurzen et al., 2006).

Der Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor (AhR) wird durch chemische Bestandteile (Dioxine) des Tabakrauchs stimuliert (Esser et al., 2009). Eine Aktivierung des Rezeptors kann proinflammatorisch wirken (Esser et al., 2009; Tsuji et al., 2012).

Nikotin verstärkt die Chemotaxis neutrophiler Granulozyten und hemmt die Einwanderung von Makrophagen, sowie die TNF- $\alpha$  Freisetzung (Mortaz et al., 2010; Jeong et al., 2010). Die Induktion von Th17-Zellen wird ebenfalls durch Nikotin gefördert (Torii et al., 2011). Bei Alveolarmakrophagen wurde eine verminderte Phagozytosefähigkeit unter Nikotineinfluss nachgewiesen – eventuell eine Erklärung für den chronischen Verlauf von Acne inversa (Hana, 2007).

Weiterhin stellte man fest, dass Tabakrauch den Notch-Signalweg im menschlichen respiratorischen Epithel herunter reguliert und somit die schon vorherrschende eingeschränkte Notch-Aktivität bei Acne-inversa-Patienten zusätzlich stören könnte (Tilley et al., 2009).

### 2.8.2 Übergewicht

Übergewicht ist ein weiterer Faktor, der mit Acne inversa assoziiert wird (Canoui-Poittrine et al., 2009; Cesko et al., 2009; Rempel und Petres, 2000). Eine prospektive Studie mit 100 Acne-inversa-Patienten ergab, dass über 50 % übergewichtig waren und nur 26,1 % ein normales Körpergewicht hatten. Der durchschnittliche Body-Mass-Index (BMI) betrug 27,7 bei Frauen und 29,3 bei Männern (Cesko et al., 2009). In einer Studie von Canoui-Poittrine

und Mitarbeitern wurde zudem eine positive Korrelation zwischen erhöhtem BMI und Schweregrad der Erkrankung aufgezeigt (Canoui-Poitaine, 2009).

Der große Haut-zu-Haut-Kontakt bei übergewichtigen Personen führt zu erhöhten Feuchtigkeitsreservoirs in den Hautfalten und bildet somit einen weiteren Entzündungsreiz. Feuchte Hautfalten, gerade axillär, führen bei Rauchern zu einer erhöhten Nikotinreabsorption und erhöhte Temperaturen im Bereich der Hautlappen begünstigen das bakterielle Wachstum. Darüber hinaus wird diskutiert, dass großflächige und dicht aufeinanderliegende Hautteile die follikuläre Verstopfung fördern (Alikhan et al., 2009; van der Zee et al., 2012).

Übergewicht wird häufig mit einem subakuten Entzündungsstadium in Verbindung gebracht (Ouchi et al., 2011). Fettgewebe zeigt eine vermehrte Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- $\alpha$  und IL-6 (Nishimura et al., 2009; Boer und Jemec, 2016; Boer und Mihajlovic, 2016).

Zudem wurde nachgewiesen, dass adipöses Gewebe von einer hohen Zahl Makrophagen infiltriert wird. Diese tragen durch die Sekretion von inflammatorischen Zytokinen zur Förderung der Entzündung bei (Tilg und Moschen, 2008).

Es wurde eine verhältnismäßig hohe Prävalenz des Metabolischen Syndroms bei Acne-inversa-Patienten beobachtet (Sabat et al., 2012). Eine Verbindung von Acne inversa zum metabolischen Syndrom darf gezogen werden, da die durch Übergewicht erhöhten Entzündungsmediatoren die Insulinresistenz begünstigen (Sabat et al., 2012; Melnik und Plewig, 2013). Dieser Mechanismus ist auch bei Psoriasis zu beobachten, wobei ebenfalls der stimulierende Effekt von IL-1 $\beta$  auf die Proliferation von Keratinozyten zu nennen ist (Buerger et al., 2012).

### **2.8.3 Hormone und Medikamente**

Da Acne inversa oft während oder nach der Pubertät auftritt, scheint ein hormoneller Einfluss plausibel. Der genaue Einfluss von Hormonen auf Acne inversa ist bis heute nicht geklärt. Die meisten Patienten zeigen keine hormonellen Auffälligkeiten (Bergler-Czop et al., 2015).

Prämenstruell wird bei Frauen häufig eine Verschlechterung der Symptome beobachtet, wohingegen sich das klinische Bild während der Schwangerschaft verbessert. Der relativ verminderte Androgenspiegel während der Schwangerschaft unterstreicht den Einfluss der Androgene auf die Erkrankung (Mühlstädt et al., 2013).

Antiandrogentherapien mit Cyproteronen und Ethinyloestradiol zeigen zudem in einigen Fällen einen positiven Effekt bei der Acne-inversa-Therapie (Mortimer et al., 1986).

Eine Fallstudie von 1989 berichtete über sieben Patientinnen, die nach der Einnahme oraler Kontrazeptiva zeitnah Acne-inversa-Erkrankungserscheinungen aufwiesen. Diese konnten durch Einnahme von Kontrazeptiva mit einer hohen Östrogen/Progesteron Ratio verbessert werden (Stellon und Wakeling, 1989).

### 2.8.4 Bakterien

Die Entzündungsherde sind anfangs meist steril. Diese Tatsache unterstreicht die Annahme, dass es sich nicht um eine primär infektiöse Krankheit handelt und der Einfluss von Bakterien auf Acne inversa eher sekundär ist (Jansen et al., 2002; Sellheyer und Krahel, 2008). Dennoch stellt die bakterielle Besiedelung eine beachtenswerte Begleiterscheinung dar. Sartorius et al. konnten in einer Studie bei allen Acne-inversa-Patienten in den oberflächlichen Läsionsbereichen sowie in tieferen befallenen Hautschichten, koagulasenegative Staphylokokken nachweisen. *Corynebacterium Spp.* war, mit einer Ausnahme, ebenfalls bei allen Patienten zu finden. Unter den Anaerobiern waren grampositive Kokken am weitesten verbreitet. *Staphylococcus aureus* stand lange Zeit im Verdacht, Acne inversa zu triggern. Sartorius et al. konnten jedoch in keinem akut-entzündlichen Knoten *Staphylococcus aureus* nachweisen (Sartorius et al., 2012).

Eine aktuelle Studie hat Unterschiede zwischen dem Mikrobiom in läsionalen und nichtläsionalen Hautarealen von Acne-inversa-Patienten (n = 30) und einer gesunden Kontrollgruppe (n = 24) aufgezeigt. In den läsionalen Hautproben wurden überwiegend Corynebakterien sowie Porphyromonas- und Peptoniphilus-Stämme identifiziert. In den Proben der gesunden Kontrollgruppe zeigte sich ein signifikant erhöhtes Vorkommen des *Propionibacterium acnes* im Vergleich zu Acne-inversa-Patienten. Die Autoren der Studie schlussfolgerten daraus, dass Propionibakterien eine Rolle in der Pathogenese spielen könnten (Ring et al., 2017). Auch scheint die Zusammensetzung der bakteriellen Besiedelung abhängig vom lokalen Milieu zu sein, das von der Lokalisation der Läsion und der Ausprägung der Erkrankung beeinflusst wird (Nikolakis et al., 2017).

## **2.9 Komplikationen und einhergehende Erkrankungen**

Lokale und systemische Infektionen (Lungenentzündung, Meningitis), Lymphödeme und Erysipele können eine Folge der chronischen Entzündung sein. In der Literatur wird auch von Todesfällen infolge einer Sepsis berichtet (Heilberger et al., 1994; Moschella, 1966). Folgeerscheinungen können Inkontinenz durch rektale Fisteln und Vernarbung bedingte Funktionsverluste des Analsphinkters sein (Williams et al., 1991).

Eine schwerwiegende, wenn auch seltene Komplikation ist die Entwicklung eines Plattenepithelkarzinoms. Dabei ist unklar, ob es auf der Basis der chronischen Entzündung auftritt wie bei einem Marjolin-Ulkus (Williams et al., 1991; Short et al., 2005; Talmant et al., 2006; Constantinou et al., 2008; Fabbrocini et al., 2017). Die maligne Entartung findet sich im Genital- und Analbereich (Makris et al., 2017). Das Risiko einer Entartung im Analbereich wird auf 1,7-3,2 % beziffert (Williams et al., 1991). Die Mortalitätsrate liegt bei fast 50 % (Constantinou et al., 2008; Fimmel und Zouboulis, 2010). Das fast ausschließliche Auftreten von Karzinomen im genitoanalen Bereich könnte ein Hinweis auf eine Beteiligung von onkogenen humanen Papillomaviren (HPV-Viren) sein.

Eine weitere seltene Komplikation der Acne inversa ist die Amyloidose (Girouard et al., 2012; Montes-Romero et al., 2008; Titze et al., 2003). Erkrankungen, wie Morbus Crohn, Dowling-Degos, Down-Syndrom, Colitis ulcerosa und weitere diverse Syndrome wie das PASH-Syndrom werden mit Acne inversa in Verbindung gebracht (Tabelle 1) (Fimmel und Zouboulis, 2010).

Disease	Reported cases associated with HS
Inflammatory bowel diseases	82
(1) Crohn disease (CD), ulcerative colitis	81
(2) Crohn disease (CD) and squamous cell carcinoma (SCC)	1
SAPHO (synovitis, acne, palmoplantar pustulosis, hyperostosis, osteitis) syndrome	9
Pyoderma gangrenosum	7
Adamantiades-Behçet disease (ABD)	5
Spondylarthropathy SPDA1, SPDA2	59
(1) without additional signs	
(2) with acne conglobata only	37
or follicular occlusion triad ( HS, acne conglobata, dissecting cellulites of the scalp)	22
Genetic keratin disorders associated with follicular occlusion	42
(1) Pachyonychia congenita (PC-2)	26
(2) Dowling-Degos disease	16
(a) without additional signs	12
(b) with arthritis	2
(c) with squamous cell carcinoma (SCC)	2
Other genetic disorders	
(1) Keratitis-ichthyosis-deafness (KID) syndrome	4
(2) Down's syndrome	3
Epithelial tumors	38
(1) squamous cell carcinoma (SCC)	37
(2) adenocarcinoma	1

**Tabelle 1: Komorbiditäten bei Acne inversa in Anlehnung an Fimmel und Zouboulis, 2010**

## 2.10 Therapiemöglichkeiten

Die Behandlungserfolge sind in vielen Fällen enttäuschend. Bei medikamentöser Behandlung kommt es häufig zu einer temporären Remission der Krankheit, doch ein langfristiger heilender Therapieeffekt bleibt aus. Oftmals hilft nur die radikale chirurgische Exzision der Läsionen. Hierbei gilt: je radikaler der operative Eingriff, desto geringer die Rezidivrate (Bechara und Hartschuh, 2010). Bei schweren Entzündungsverläufen sollte präoperativ eine antibiotische Therapie erwogen werden.

Zur Standardisierung und Verbesserung der Behandlung von Acne inversa wurde im Jahr 2012 die „S1-Leitlinie zur Therapie der Hidradenitis suppurativa/Acne inversa“ herausgegeben (Zouboulis et al., 2012).

### **2.10.1 Konventionelle Therapie**

Bei leichten Formen (Hurley 1 und Hurley 2) kann die topische Therapie mit Clindamycin 1 % moderate Erfolge bringen. Bei Entzündungen in tieferen Hautschichten wurde bei der topischen Gabe kein nennenswerter Therapieeffekt beobachtet (Clemmensen, 1983).

Bei der Behandlung von Acne-inversa-Patienten mit Antibiotika konnten Jemec und Wendelboe keinen bedeutenden therapeutischen Unterschied zwischen topischer 1 % Clindamycin-Gabe (1-0-1; 3 Monate) und der systemischen 500 mg Tetrazyklin-Therapie (1-0-1; 3 Monate) feststellen. Allerdings sollte bei schweren Formen der Acne inversa eher eine systemische Therapie erwogen werden (Jemec und Wendelboe, 1998).

Gener et al. empfehlen eine systemische Antibiose mit Clindamycin und Rifampicin je 300 mg (1-0-1). Eine groß angelegte Studie (n = 116) konnte die Wirksamkeit der Behandlung bestätigen, wobei nach zehnwöchiger Therapie der Sartorius-Score als Gradmesser für den Therapieerfolg herangezogen wurde. Bei 11 % der Patienten konnte die Krankheit kuriert werden und bei 70 Patienten zeigte sich eine starke Verbesserung nach Abschluss der Behandlung (Gener et al., 2009).

Ein langfristiger kurativer Erfolg der Therapie ist fraglich. Mendoca und Griffiths wiesen in einer retrospektiven Studie Remissionen bei 10 von 14 Patienten nach, die mit der Antibiotika-Kombination behandelt wurden (Mendoca und Griffiths, 2006).

Eine hormonelle Antiandrogen-Therapie bei Frauen, nicht als primäre, sondern als ergänzende Therapieform wird empfohlen, wenn systemische Antibiotika keine Wirkung zeigen (Zouboulis et al., 2012). Eine Studie an Acne-inversa-Patientinnen, die mit Ethinylestradiol 50 µg und Cyproteronacetat 50 mg täglich behandelt wurden, führte zu Remissionen bei der Hälfte der Studienteilnehmerinnen (Sawers et al., 1986).

In einer weiteren Studie an Patientinnen (n = 64) konnte ein größerer Therapieerfolg bei der Antiandrogen-Therapie im Vergleich zur oralen Antibiotikatherapie beobachtet werden (Kraft und Searles, 2007). Randhawa et al. beschreiben an drei Patienten Verbesserungen nach Einnahme von Finasterid (Randhawa et al., 2013).

Die Erwartungen, die in die Behandlung mit Retinoiden mit ihren immun-modulierenden Eigenschaften gesteckt wurden, konnten bislang nicht bestätigt werden. Die orale Gabe von Isoretinoin zeigte in einer großen Studie (n = 358) keinen messbaren therapeutischen Erfolg und wird daher zur Therapie von Acne inversa nicht empfohlen (Soria et al., 2009). Acitretin,

ein Retinoid der zweiten Generation, konnte positive Ergebnisse vorweisen. Allerdings ist die Erkenntnislage hinsichtlich der Acitretin-Therapie bis dato zu gering, um den Behandlungseffekt zufriedenstellend zu bewerten (Blok et al., 2013; Boer und Nazary, 2011; Hogan und Light, 1988).

Dapson wirkt antibiotisch und anti-inflammatorisch. Es wird zur Therapie von chronisch entzündlichen Autoimmunerkrankungen eingesetzt. Bei fünf Patienten einer Studiengruppe, die mit Dapson behandelt wurden, kam es innerhalb von 4 bis 12 Wochen (Dosierung zwischen 25-150 mg/Tag) zu einer deutlichen Besserung der Symptome (Kaur und Lewis, 2006). In einer weiteren Testgruppe mit 24 Patienten wurde bei lediglich 38 % eine Verbesserung der Symptome nachgewiesen. Bei vier Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf sprach die Therapie mit Dapson nicht an. Nach Therapieabbruch kam es zu einem schnellen Wiederaufflammen der Entzündungen (Yazdanyar et al., 2011).

Die vorliegenden Daten zur Behandlung mit Immunsuppressiva sind uneinheitlich. Sie führt nach bisherigen Erkenntnissen zu keiner vollständigen Krankheitsremission, kann aber den Schweregrad günstig beeinflussen (Zouboulis et al., 2012). Cyclosporin A (2-6 mg/kg KG) über 4 bis 15 Monate zeigte bei 35 % der Patienten einen positiven Effekt (Blok et al., 2013). Eine Therapie mit Methotrexat oder Azathioprin wird bisher aufgrund fehlender Studien nicht empfohlen (Zouboulis et al., 2012).

Die Behandlung mit den Biologics Infliximab und Adalimumab wird als Erfolg versprechende Therapiemethode bei Acne inversa angesehen (van Rappard et al., 2012a; Blok et al., 2013).

Adalimumab und Infliximab sind monoklonale Antikörper, die spezifisch an TNF- $\alpha$  binden und diesen in seiner Wirkung als Signalstoff bei Entzündungen neutralisieren. Sie finden auch Anwendung in der Therapie von Psoriasis-Arthritis oder Morbus Crohn (Nuno-Gonzalez et al., 2012).

Infliximab ist ein monoklonaler Antikörper mit murinen und humanen Strukturelementen und bindet spezifisch an TNF- $\alpha$  (Zouboulis et al., 2012). Als reine Monotherapie wird die Behandlung mit Biologics nicht empfohlen, jedoch wurde bei Infliximab-Patienten mit mittlerer bis schwerer Acne inversa eine Verbesserung des Sartorius Score festgestellt (Grant et al., 2010). Der Effekt der Therapie ist wohl nicht dauerhaft und bei Langzeittherapie warnen die Autoren vor der toxischen Wirkung, die gerade bei Infliximab als chimärem Antikörper beachtet werden sollten (Fernandez-Vozmediano und Armario-Hita, 2007).

Im Jahre 2015 erhielt Adalimumab (Humira®) als erstes und bisher einziges Medikament zur systemischen Behandlung der Acne inversa eine Zulassung in der Europäischen Union, den USA und Kanada (Gupta und Studholme, 2016; Kim et al., 2016).

Adalimumab ist im Gegensatz zu Infliximab ein vollständig humaner Antikörper. Bei der Therapie mit Adalimumab konnte in den bisher durchgeführten Studien eine deutliche Besserung der Symptome festgestellt werden (Sotiriou et al., 2012; Miller et al., 2011; Yamauchi und Mau, 2009). Aktive entzündliche Läsionen scheinen auf eine Adalimumab Behandlung anzusprechen (Zouboulis, 2016). Bei einer wöchentlichen Einnahme des Medikamentes konnten bei mittelschweren bis schweren Ausprägungsgraden sowohl die Anzahl der Abszesse als auch die entzündlichen Knoten reduziert werden (Mekkes, 2017; Kim et al., 2016; Gupta und Studholme, 2016).

Als Komplikation sind anaphylaktische Reaktionen bei Infliximab-Infusionen, reaktivierte Tuberkulosefälle, Probleme bei bestehender Herzinsuffizienz, Leberschäden und letale Ausgänge bei hämatologischen Veränderungen bekannt. Infliximab und Adalimumab sind zudem teratogen und sollten daher nicht während der Schwangerschaft eingenommen werden (Zouboulis et al., 2012).

Rezidive treten nach Absetzen der TNF- $\alpha$ -Inhibitoren auf. Die Behandlungskosten (Apothekenabgabepreis) betragen für ein 6er Pack 40 mg Adalimumab (Humira®), ausreichend für eine 12-wöchige Therapie, ungefähr 5.200 Euro (Gemeinsamer Bundesausschuss, 2015). Die nicht überzeugenden Ergebnisse, mögliche Nebenwirkungen und der sehr hohe Preis scheinen gegen eine generelle Einführung bei Acne inversa zu sprechen.

### **2.10.2 Operative Therapie**

Von einer einfachen Inzision bei entzündlichen Läsionen (auch bei Hurley-Grad 1) wird abgeraten, da mit einer Rezidivrate von 100 % zu rechnen ist (Ritz et al., 1998). Bei kleinen Läsionen mit einzelnen Knoten und Abszessen kann nach Exzision in toto ein primärer Wundverschluss erfolgen (van Rappard et al., 2012). Empfohlen wird eine perioperative Antibiose mit Cefuroxim 500 mg 1-0-1 (Mühlstädt et al., 2009).

Bei Hurley-Grad 2 bis 3 wird eine radikale Exzision bis ins reizfreie Fettgewebe, teilweise bis auf die Muskelfaszien empfohlen (Ellis, 2011). Fistelgänge und Narbengewebe sollen



komplett dargestellt und entfernt werden. Die Schnittführung sollte bis zu 1 cm über das erkrankte Gewebe hinausgehen (Bergler-Czop et al., 2015).

Nach Exzision wird eine sekundäre Defektheilung mit Vakuum-assistierten Granulationshilfen angestrebt. Die Deckung des Defekts mittels Spalthaut, Mesh-Graft oder Lappenplastik nach Abwarten einer 2- bis 4-wöchigen Granulationsphase wird von Mühlstädt et al. empfohlen. Regelmäßige Krankengymnastik soll Bewegungseinschränkungen durch Narben reduzieren (Mühlstädt et al., 2013).

Der primäre Wundverschluss sollte nach heutiger Sicht nur im axillaren Bereich mittels Lappenplastik oder nur bei sehr geringer Defektausdehnung erwogen werden (Altmann et al., 2004), da die postoperative Komplikationsrate im Vergleich zur sekundären Wundheilung deutlich höher ist (Zouboulis et al., 2012).

Die anatomische Lage der behandelten Region scheint einen großen Einfluss auf die Häufigkeit von postoperativen Rezidiven zu haben. Die Rezidivrate bei axillarem und perianalem Befall erscheint deutlich geringer, als bei inguinoperinealen und submammären Manifestationen (axillar 3 %, perianal 0 %, inguinoperineal 37 %, submammär 50 %) (Harrison et al., 1987; Zouboulis et al., 2012).

Die elektrochirurgische Abtragung von Läsionen wird bei der Behandlung von Acne inversa ebenfalls in Erwägung gezogen. Der Vorteil der Behandlung wird damit begründet, dass sie vergleichsweise minimalinvasiv ist und das umliegende gesunde Gewebe weitestgehend erhält. In einer Studie wurde bei 73 Patienten (83 %) kein erneutes Wiederaufflammen der behandelten Region innerhalb eines Zeitraums von 34 Monaten festgestellt (van der Zee et al., 2010).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass sich bei der Therapie von Acne inversa einige versprechende Behandlungsansätze finden lassen, die allerdings kritisch hinterfragt werden müssen. Bei weniger schwer verlaufenden Krankheitsfällen wird der Einsatz von konservativen Methoden, wie Antibiotika, empfohlen. Diese bringen kurzfristige Linderung der Beschwerden, jedoch keine Heilung. Bei mittelschweren und schwereren Ausprägungsgraden muss ein chirurgischer Eingriff (radikale Exzision mit sekundärer Wundheilung) vorgenommen werden (Humphries et al., 2016; Kirschke et al., 2015). Begleitend empfiehlt sich eine systemische Antibiotika Behandlung. Außerdem zeigen sich mit Adalimumab als bisher einzigem zugelassenen, systemischem Medikament gegen Acne inversa angedeutete Erfolge (Mekkes, 2017; Kim et al., 2016; Gupta und Studholme, 2016).

## **2.11 Mutationen der $\gamma$ -Sekretase - Eine Erklärung für die Pathogenese?**

Es wird vermutet, dass genetische Faktoren die Entstehung der Acne inversa beeinflussen. Bei familiären Formen wird ein autosomal dominanter Erbgang vermutet (Fitzsimmons et al., 1985; von der Werth et al., 2000; Zhou et al. 2016).

Es wird ein Zusammenhang mit der  $\gamma$ -Sekretase vermutet. Die  $\gamma$ -Sekretase ist ein integrales Membranprotein, bestehend aus vier Proteinen, und spaltet Typ 1 Transmembranproteine (Niimura et al., 2005). Die Proteine Presenilin, PEN-2, Nicastrin und Aph-1 bilden den Proteinkomplex der  $\gamma$ -Sekretase. Zu den wichtigsten Substraten, die von der  $\gamma$ -Sekretase prozessiert werden, zählt das Amyloid-Precursor-Protein (APP) und das Protein Notch. Letzterem wird eine wichtige Rolle in der Pathogenese von Acne inversa beigemessen (Sato et al., 2007).

Presenilin ist die katalytisch aktive Komponente des Komplexes. Eine Vielzahl von Mutationen der Presenilin-Untereinheit werden mit der Entstehung der Alzheimer-Krankheit in Verbindung gebracht. Nicastrin spielt bei der Substraterkennung über N- und C- terminale Fragmente eine wichtige Rolle (Shah et al., 2005). Aph-1 und PEN bilden das Gerüst des Komplexes und sind für die Reifung und Stabilisierung zuständig (Niimura et al., 2005).

2010 entdeckten Wang und Kollegen mehrere heterozygote Mutationen in den  $\gamma$ -Sekretase Genen *PSENEN*, *PSENI* und *NCSTN*. Das dabei untersuchte Erbgut stammte von sechs chinesischen Familien, die schwere Symptome aufwiesen. Teilweise konnte auch ein Befall untypischer Körperregionen wie der Gesichts-, Rücken- oder Hüftbereich festgestellt werden (Wang et al., 2010).

### **2.11.1 Der Notch-Signalweg und der Einfluss der $\gamma$ -Sekretase**

Das Protein Notch, das von der  $\gamma$ -Sekretase prozessiert und reguliert wird, ist selbst ein Transmembranprotein und bildet den Notch-Signalweg. Der Notch-Signalweg ist an der Kommunikation der Zellen, der Zellentwicklung, im Speziellen auch der Differenzierung von Haarfollikelzellen und bei der Regulation immunologischer Funktionen beteiligt.

Vier verschiedene Notch-Rezeptoren (Notch1-4) sind bislang bekannt. Sie reagieren unter anderem auf die Liganden Delta und Jagged 1-2 durch Proteolyse und setzen damit den Notch-Signalweg in Gang. Die extrazelluläre S2-Proteolyse erfolgt unter Anwesenheit der Metalloprotease ADAM10. Bei der proteolytischen Spaltung der intrazellulären Komponente

von Notch, der S3-Spaltung, greift die  $\gamma$ -Sekretase direkt ein. Für diesen Vorgang scheint vor allem die katalytisch aktive Presenilin-Einheit des  $\gamma$ -Sekretasekomplexes verantwortlich zu sein (Selkoe und Kopan, 2003).

Von Notch abgespalten, diffundiert die Notch-intracelluläre-domain (NICD) in den Zellkern und bildet dort mit dem CSL-Protein (DNA-Bindungsprotein) einen Transkriptionskomplex (Kwon et al., 2012; Melnik und Plewig, 2013). Dabei wird die Expression von HES- und HEY-Genen beeinflusst, deren Aufgabenbereiche unter anderem in der epidermalen Zelldifferenzierung und Immunregulation liegen (Kwon et al., 2012; Melnik und Plewig, 2013). Bei Versuchen mit Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass ADAM10,  $\gamma$ -Sekretase- und/oder Notch-Fehlfunktionen zu einer epidermalen Hyperproliferation und Zysten führen. Das histopathologische Bild gleicht dem der Acne inversa (Weber et al., 2011; Melnik und Plewig, 2013). Pan et al. wiesen bei Versuchen an Tieren nach, dass bei fehlender  $\gamma$ -Sekretase eine Umwandlung von Haarfollikeln in Zystengewebe erfolgte (Pan et al., 2004).

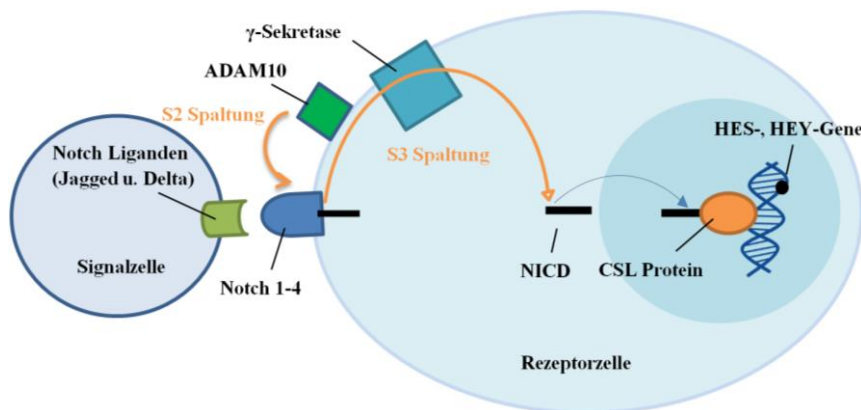


Abbildung 4: Notch-Signalweg (in Anlehnung an Melnik und Plewig, 2013)

### 2.11.2 Sind Notch-Fehlfunktionen verantwortlich für den chronischen Entzündungsverlauf bei Acne inversa?

Einen möglichen Erklärungsansatz für das chronische Entzündungsgeschehen bei Acne inversa beschreiben Melnik und Plewig. Sie vermuten eine durch Th17-Zellen angetriebene Autoinflammation, deren Ursache durch die Notch-/  $\gamma$ -Sekretase-Fehlfunktion erklärt wird. Durch Veränderungen der Haarfollikelstruktur kommt es zur Ruptur des Follikels und epidermalen Zysten. Ebenso führen diese Vorgänge auch zu einer Aktivierung der angeborenen Immunantwort, deren Feedback Regulation durch eine reduzierte Notch-MKP-1

vermittelte Hemmung der angeborenen Immunantwort gestört sein könnte (Melnik und Plewig, 2013).

Die potentiellen Mechanismen werden dabei wie folgt erklärt: Nekrotische Zellen sondern damage-associated molecular pattern molecules (DAMPs) in das umliegende Gewebe ab. Das Immunsystem reagiert über Toll-like Rezeptoren auf das Infiltrat (Piccinini und Midwood, 2010).

Bei der Ruptur epidermaler Zysten könnten freiliegende Keratinbestandteile die Toll-like Rezeptoren auf Makrophagen und dendritischen Zellen aktivieren. Makrophagen und dendritische Zellen werden wiederum zur Sekretion proinflammatorischer Zytokine, unter anderem TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$ , angeregt. Die Zytokinfreisetzung würde die Th17 Zellpolarisation fördern und demnach die Immunantwort steigern (Melnik und Plewig, 2013).

### **2.11.3 Eingeschränkte Feedback Regulation über Notch-MKP-1?**

Die mitogen-activated protein kinase (MAPK) ist wichtig für die Biosynthese von proinflammatorischen Zytokinen in Immunzellen (Melnik und Plewig, 2013). Wang und Liu konnten bei In-vivo-Versuchen an Mäusen nachweisen, dass ihre Aktivität über die MAP kinase Phosphatase, MKP-1, durch Dephosphorylierung reguliert wird (Wang und Liu, 2007). In diese Signalkaskade scheint Notch direkt einzugreifen. Kondoh et al. zeigen einen direkten Zusammenhang des Notch- und MAPK-Signalwegs durch eine Notch-induzierte MKP-1 Steuerung (Kondoh et al., 2007).

Folglich führt eine eingeschränkte Notch-Funktion zu einer reduzierten Aktivität der MAPK-1 Phosphatase und somit zu einer Aktivierung der angeborenen Immunantwort durch die ungehemmte Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen. Melnik et al. leiten daraus ab, dass die fehlende negative Feedback Regulation über Notch-MKP-1 die Ursache der Beständigkeit der chronischen Entzündung bei Acne inversa erklären könnte. Damit wird die vermeintlich wichtige Rolle von Notch und somit der  $\gamma$ -Sekretase Funktion in Bezug auf die Entstehung von Acne inversa hervorgehoben (Melnik und Plewig, 2013).

### **2.12 Mit Acne inversa assoziierte Syndrome (PAPA, PASH, PAPASH)**

2012 beschrieben Braun-Falco et al. zwei Patienten, die beide an Pyoderma gangraenosum, schwerer Akne und Acne inversa litten. Die Symptome waren dem PAPA-Syndrom ähnlich,

eine erbliche Autoinflammationserkrankung, die sich klinisch als Pyoderma gangraenosum, schwere Akne und pyogene Arthritis darstellt. Die für das PAPA-Syndrom typische Mutation im *PSTPIPI* Gen konnte jedoch bei beiden Patienten nicht nachgewiesen werden (Braun-Falco et al., 2012).

Auffällig bei der molekulargenetischen Untersuchung war jedoch eine erhöhte CCTG Nukleotid-Wiederholung (Mikrosatellit) im Bereich des *PSTPIPI* Promotorabschnitts. Das vermehrte Vorkommen von solchen Polymorphismen wurde bereits bei Patienten mit dem aseptischen Abszess-Syndrom beschrieben – einer Autoimmunerkrankung, die häufig mit Morbus Crohn einhergeht (Andre und Aumaitre, 2011; Braun-Falco et al., 2012).

Trotz der klinischen Ähnlichkeit war ein klarer Unterschied zum PAPA-Syndrom erkennbar. Braun-Falco et al. schlugen daher die Bezeichnung PASH-Syndrom vor. Bei einem der beiden Patienten zeigte sich ein deutlicher Rückgang der Entzündung, nachdem er mit Anakinra, einem Interleukin-1 $\beta$  Rezeptorantagonisten und später in Kombination mit Cyclosporin behandelt wurde. Der Therapieerfolg mit Anakinra, wenngleich er auch nicht zu einer vollständigen Remission führte, war für die Autoren ein Hinweis auf die vermutlich wichtige Rolle von IL-1 $\beta$  bei der Krankheitsentstehung (Braun-Falco et al., 2012).

Bislang war das PASH-Syndrom (**P**oderma gangrenosum, **A**kne, **s**uppurative **H**idradenitis) ohne Auftreten der pyogenen Arthritis bekannt. Im Jahr 2013 wurde erstmals von einer Tetrade aus **p**yo gener **A**rthritis, **P**oderma gangrenosum, **A**kne und **s**uppurative **H**idradenitis mit einer neuen Mutation des *PSTPIPI* Gens berichtet und die Bezeichnung PAPASH eingeführt (Marzano et al., 2013).

Einer der genannten Unterschiede zwischen den Syndromen PAPA und PASH war bisher die fehlende Mutation im *PSTPIPI* Gen bei PASH-Patienten. Die Autoren um Calderon-Castrat veröffentlichten erstmalig einen PASH-Patienten mit einer Mutation des *PSTPIPI* Gens (Calderon-Castrat et al., 2016).

Das *PSTPIPI* Gen kodiert für das proline-serine-threonine phosphatase interacting protein 1 (*PSTPIPI*). *PSTPIPI* bindet Pyrin, ein Protein, das bei familiärem Mittelmeerfieber (FMF) mutiert ist - eine autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung, die neben Fieberschüben eine wiederkehrende Serositis zeigt (Shoham et al., 2003). Ein Zusammenhang der Krankheitsentstehung bei FMF und dem PAPA- oder auch dem PASH-Syndrom ist für die Autoren wegen des Einflusses des *PSTPIPI* Proteins auf Pyrin wahrscheinlich (Braun-Falco et al., 2012; Shoham et al., 2003).

Die Hypothese der *PSTPIP1* Beteiligung bei der Entzündung rückt den Fokus auf das NLRP3 Inflammasom. Es wird vermutet, dass die Mutation des entsprechenden Gens eine Hyperphosphorylierung des *PSTPIP1* Proteins verursacht und somit Pyrin stärker bindet. Der über das NALP3 Inflammasom angetriebene proinflammatorische Signalweg wird nicht mehr länger durch das gebundene Pyrin gehemmt und somit die Freisetzung von aktivem Interleukin-1 $\beta$  erhöht (Braun-Falco et al., 2012).

Nicastrin-Mutationen waren bisher bei familiärer Acne inversa und nicht bei den oben genannten Syndromen bekannt. Duchatelet et al. untersuchten mit diesem Wissen drei PASH-Patienten nicht nur auf Mutationen im *PSTPIP1* Gen und die CCTG Mikrosatelliten-DNA, sondern auch die Acne inversa relevanten Gene *NCSTN*, *PSENEN* und *PSEN1*. Bei einem der drei Patienten wurde neben einer erhöhten CCTG Frequenz auch eine bisher neue 8 Nukleotide lange Deletion im Nicastrin Gen (c.344\_351del; NM\_015331.2) festgestellt (Duchatelet et al., 2015).

Erstmals wurde bei einem PASH-Patienten eine Nicastrin Mutation gezeigt (Duchatelet et al., 2015). Ob bei PASH verschiedene Mutationen in einem Gen die unterschiedlichen Phänotypen hervorrufen oder ob ein Zusammenspiel von mehreren Krankheiten ursächlich ist und welche Rückschlüsse man daraus auf Acne inversa als singuläre Erkrankung ziehen kann, ist nicht geklärt.

### **3 Material und Methoden**

Die Patienten des Studienkollektivs wurden in die Ambulanz der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München einbestellt. In Einzelgesprächen wurde ein Fragebogen zur Erkrankung erhoben (Anhang). Bei offenen Fragen war ein direkter Ansprechpartner verfügbar. An der Studie nahmen 44 Personen teil (Abbildung 5).

Anschließend erfolgte die klinische Untersuchung der Patienten mit Inspektion der pathologisch betroffenen Hautbereiche. Im Fotolabor wurden die Läsionsareale fotografisch dokumentiert. Die Blutentnahme für die molekulargenetische Untersuchung fand in der Regel ebenfalls in der Ambulanz der Dermatologischen Klinik statt, in Einzelfällen wurde die Blutentnahme bei Hausärzten vorgenommen. Die Patientengruppe München umfasste 24 Patienten (22 mit Acne inversa Phänotyp und 2 nicht betroffene Verwandte; 23 Blutproben und 20 Fragebögen).

Aus dem Patientenstamm der Gemeinschaftspraxis Prof. Dr. med. Bodo Melnik & Dr. rer. medic. Housien Hariry aus Gütersloh wurde eine zweite Untersuchungsgruppe zur Verfügung gestellt. Der Fragebogen wurde anhand eines Telefongesprächs ausgefüllt. Die entsprechenden Unterlagen zur Blutabnahme wurden den Patienten postalisch zugestellt. Die Patientengruppe Gütersloh umfasste 8 Patienten mit Acne inversa Phänotyp (8 Blutproben und 8 Fragebögen).

Eine weitere Untersuchungsgruppe bildete eine Familie mit 12 Mitgliedern (darunter 8 mit Acne inversa Phänotyp, 12 Blutproben und 8 Fragebögen). Auch hier erfolgte die Blutabnahme beim Hausarzt, der Fragebogen wurde telefonisch besprochen.

Vor Studiendurchführung wurde die Genehmigung durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät (LMU) eingeholt. Voraussetzung für jede Untersuchung war die Einholung einer datenschutzrechtlichen Einverständniserklärung und die ausführliche Aufklärung über Studienablauf und Datenverwendung.

#### **DNA-Untersuchung und zeitlicher Ablauf**

Die Patienten der Gruppe München („M“) (Abbildung 5) wurden von November 2012 bis März 2013 ermittelt und zur Blutabnahme und Beantwortung des Fragebogens in die

Ambulanz der Klinik einbestellt. Extraktion, Verarbeitung und Auswertung der DNA-Proben erfolgte von Februar 2013 bis September 2013 im Helmholtz Zentrum München. Kontaktaufnahme, telefonische Befragung sowie Blutabnahme der Patienten der Gruppe Gütersloh („G“) fanden im Zeitraum Januar 2016 bis April 2016 statt. Die Rekrutierung einer 12-köpfigen Familie („F“) mit 8 Acne-inversa-Betroffenen erfolgte von Januar 2017 bis Februar 2017. In der Abteilung für Genodermatosen des Helmholtz Zentrum München wurde die DNA aus EDTA-Blut extrahiert und die Exons der Gene (Gruppe „M“) *APH1A*, *APH1B*, *PSENEN*, *PSEN1*, *PSEN2* und *NCSTN* auf Mutationen untersucht.

Der Verfasser dieser Arbeit hat die Patientenbefragungen sowohl telefonisch als auch persönlich durchgeführt und bei der molekulargenetischen Untersuchung der Gruppe „M“ im Helmholtz Zentrum unter Anleitung mitgewirkt. Das hier angewendete Untersuchungsverfahren zur Auswertung der Proben entsprach dem Sequenzierungsverfahren nach Sanger (Sanger et al., 1977).

Im Institut für Humangenetik am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München wurde von Matias Wagner und Dr. Peter Lichtner eine parametrische Kopplungsanalyse bei Gruppe „F“ durchgeführt. Die Kopplungsanalyse sollte Hinweise auf eine monogene beziehungsweise komplexgenetische Ursache der Erkrankung bei Gruppe „F“ liefern.

### **Beschreibung des Patientenkollektivs**

Das Patientenkollektiv bestand aus 44 Patienten, 18 Frauen und 26 Männern mit einem Durchschnittsalter von 40 Jahren (39,5). Die Mehrheit hatte ihren Wohnsitz in Bayern und Nordrhein-Westfalen. Die Patienten wurden mit dem Kriterium der klinischen Diagnose Acne inversa, unabhängig von bekannten Fällen in der Familie, ausgewählt.



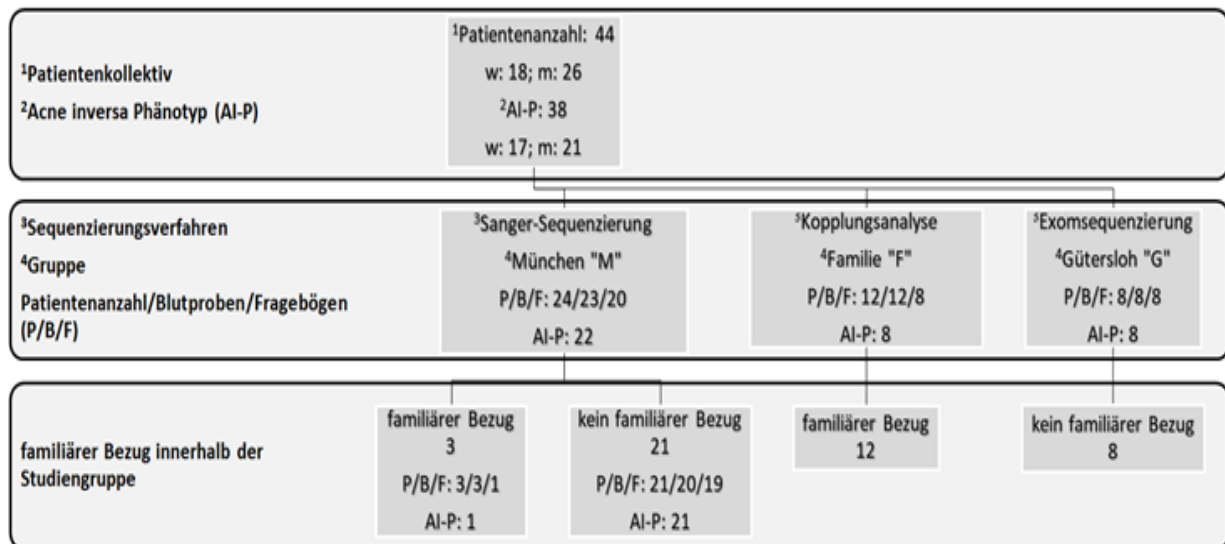


Abbildung 5: Übersicht - untersuchte Patienten und Gruppeneinteilung (<sup>5</sup>Exomsequenzierung der Gruppen „G“ und „F“ ist geplant)

### Beschreibung des Fragebogens

Ziel des Fragebogens (11 Anhang) war es, den Einfluss bestimmter Faktoren, wie Lebensgewohnheiten und Vorerkrankungen der Patienten zu ermitteln, um gegebenenfalls Rückschlüsse auf die Krankheitsentstehung und die Schwere der Erkrankung ziehen zu können.

Der Fragebogen umfasste unter anderem folgende Fragen:

- Name, Geburtsdatum, Geschlecht, Nationalität
- Größe, Gewicht
- Erstmaliges Auftreten der Erkrankung
- Pubertätsakne, sonstige Haut- und Vorerkrankungen
- Acne inversa - Vorkommen in der Familie, sonstige Hauterkrankungen in der Verwandtschaft
- Betroffene Körperstellen
- Alkohol- und Nikotinkonsum
- Bisherige Therapien und subjektiv empfundener Erfolg der Therapie
- Allergien, Stresslevel im Alltag, Hyperhidrose

### **3.1 Material**

#### **3.1.1 Verwendete Geräte**

- Agarose-Elektrophoresekammer
- Chemagic Magnetic Separation Module 1 Chemagen Biopolymer-Technologies AG
- Geldokumentationsanlage Dark Hood DH-40 biostep
- Heizblöcke
- Membran-Vakuumpumpe Merck Millipore
- Nano Drop ND-1000 Spectrophotometer peqLab Biotechnologie GmbH
- PCR-Maschine BIO-RAD S1000 Thermal Cycler
- PCR-Platten NucleoFast von Macherey-Nagel
- Spannungsgerät BIORAD Power PAC 300
- Zentrifugen

#### **3.1.2 Verwendete Enzyme**

- Proteinkinase K
- Taq-DNA-Polymerase

#### **3.1.3 Nukleotide und Nukleinsäuren**

- dATP, dGTP, dTTP, dCTP
- Primer

#### **3.1.4 Chemikalien**

- Agarose Biozym DNA Agarose
- Blue Juice (Ficoll und Bromphenolblau)
- LiChrosolv Wasser Merck Millipore
- Magnesiumchlorid
- Midori Green (NIPPON Genetics Midori Green Advanced DNA Stain)

- QC Gel 0,8 % (5 µl blue juice + 1 µl verdünnte DNA)
- Tris-Bor-EDTA
- 100 bp DNA Ladder (Invitrogen)

### **3.1.5 Fertigkits**

- BigDye Terminator Kit v3.1 Applied Biosystems

### **3.1.6 Lösungen**

- Q-Solution
- PCR-Puffer
- TE-Puffer

## **3.2 Methoden**

### **3.2.1 DNA-Extraktion aus EDTA-Blut**

Um die DNA aus dem EDTA-Blut zu isolieren, wurde das chemagic Magnetic Separation Module 1 von Chemagen Biopolymer-Technology AG verwendet. Hierbei wurde das 10K-Kit gewählt, ausgerichtet auf 7 - 10 ml Blut. Die Leukozyten im Blut wurden lysiert und die freigelegte DNA selektiv an Magnetic Beads gebunden. Verwendet wurden M-PVA Magnetic Beads aus einer Polyvinyl-Alkohol-Matrix. Das Blut durchläuft im Separationsmodul 6 Phasen bestehend aus einem Lysispuffer, zwei Bindungspuffern und drei Waschpuffern. Die Blutproben werden zu Beginn mit 50 µl ProteaseK versetzt. In der folgenden maschinellen Aufreinigung wird die freigelegte DNA an die Magnetic Beads gebunden. Nach weiteren Aufreinigungsschritten wird sie anschließend in einem TrisEDTA-Puffer eluiert.

### **3.2.2 Konzentrationsmessung der DNA-Proben**

Die Konzentrationsbestimmung der Oligonukleotide im TE-Puffer erfolgte mit dem Nano Drop ND-1000 Spectrophotometer der peqLab Biotechnologie GmbH. Mit UV-Licht im Wellenlängenbereich von 200 - 300 nm wurde über Lichtabsorption die optische Dichte der Proben bestimmt. Das Verhältnis der Absorptionsraten vom 260 nm zu 280 nm sollte idealerweise zwischen 1,8 und 2 liegen. Bei einer niedrigeren Ratio wird von einer stärkeren Verunreinigung der Probe ausgegangen.

### **3.2.3 Herstellung der Verdünnung**

Die Verdünnung der Proben erfolgte in zwei Schritten. Durch Zugabe von TrisEDTA-Puffer wurde die Nukleinsäure Konzentration zunächst auf 50 ng/µl und dann auf 10 ng/µl reduziert. Der Gesamtansatz pro verdünnter Probe betrug 200 µl.

### **3.2.4 Herstellung des Ansatzes für die PCR**

Die Zusammensetzung der PCR-Ansätze richtete sich nach dem jeweils verwendeten Primer. Um ein möglichst gutes PCR-Produkt zu erzielen, mussten einige Variablen den entsprechenden Primern angepasst werden. Dabei wurden die Ansätze wie folgt modifiziert:

- Variante 1:    Ansatz mit Magnesiumchlorid
- Variante 2:    Ansatz mit Q-Solution
- Variante 3:    Ansatz ohne Q-Solution

In Tabelle 2 ist exemplarisch ein Ansatz mit Magnesiumchlorid für den Primer *NCSTN* Ex5a Forward und Reverse abgebildet.

		Einzelansatz	Anzahl Proben und Überschuss	Gesamtansatz yl
10x PCR-Puffer	Quiagen	2		48
dNTP Mix	je dNTP 2 mM	2		48
Forward Primer	10 pmol/μl	1		24
Reverse Primer	10 pmol/μl	1		24
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	0,8		19,2
5x Q-Solution	Quiagen	0		0
Wasser	z.B. Ampuwa	11		264
D N A	10 ng/μl	2		48
Taq-Polymerase	Quiagen 5U/μl	0,2		4,8
Summe		20		480

Tabelle 2: PCR-Ansatz mit MgCl<sub>2</sub>

### 3.2.5 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die PCR ist ein Verfahren der Gentechnologie, dessen Ziel die Vervielfältigung selektiv bestimmter DNA-Abschnitte ist. Um das PCR-Produkt zu amplifizieren, ist ein entsprechendes Reaktionsgemisch nötig. Für das Reaktionsgemisch wurde ein Ansatzvolumen von 20 μl gewählt. Der Ansatz setzte sich zusammen aus 10 ng/μl DNA-Verdünnung (verdünnt mit TE-Puffer), 10x PCR-Puffer mit 15 mM MgCl<sub>2</sub> (Quiagen), 5 units/μl Taq Polymerase (HotStar-Taq), 2 mM dNTP-Gemisch 10 pM/μl Forward Primer 10 pM/μl Reverse Primer 25 mM, Magnesiumchlorid und 5x Q-Solution.

Bei der Polymerasekettenreaktion wurde das Reaktionsgemisch in mehreren Zyklen erhitzt und abgekühlt. Der gesamte Vorgang lässt sich in drei Abschnitte einteilen:

1. Das Reaktionsgemisch wird für 30 Sekunden auf 95 °C erhitzt. Bei dieser Temperatur kommt es zur Auftrennung des DNA-Doppelstranges in zwei Einzelstränge - Denaturierung.
2. Danach wird die Temperatur (hier exemplarisch für *NCSTN* Exon1) für weitere 30 Sekunden auf 65 °C herabgesetzt. Die Annealing-Temperatur variiert je nach Primer-Oligonukleotid und bietet ideale Voraussetzungen für die Hybridisierung der Primer an den komplementären DNA-Strang. Die jeweilige Annealing-Temperatur wurde zuvor experimentell ermittelt und liegt je nach Primer zwischen 55 - 65 °C. Die Annealing-Temperatur liegt etwa 5 °C unter der Schmelztemperatur der DNA. Durch die Bindung des Primers an die DNA wird die zu amplifizierende Sequenz markiert und der Startpunkt der Polymerase festgelegt. Die Annealing-Temperatur ist entscheidend für die Qualität der PCR. Bei einer zu niedrig gewählten Temperatur treten häufig unerwünschte Nebenprodukte auf, die durch unspezifische Primerbindungen verursacht werden. Bei zu hoch gewählten Temperaturen ist es möglich, dass die Hybridisierung des Primers an den Einzelstrang nicht erfolgen kann.
3. Im letzten Schritt wird die Temperatur für 60 Sekunden auf 72 °C erhöht. Dieser Temperaturbereich ermöglicht es der Taq-Polymerase optimal zu arbeiten. Der Komplex der Taq-Polymerase lagert sich an den Primern an und synthetisiert in beide Richtungen neue DNA-Stränge. Die Nukleotide, die man für diesen Vorgang benötigt, werden aus einer dem Reagenz beigemengten Desoxynucleosidtriphosphat (dNTP)-Lösung bezogen. Durch Wiederholung der Schritte können die entsprechenden DNA-Sequenzen gezielt vervielfältigt werden.

### 3.2.6 PCR-Programm

Die Polymerase-Ketten-Reaktion erfolgte in einem BIO-RAD S1000 Thermal Cycler. Die Auswahl des PCR-Protokolls orientierte sich an der optimalen Annealing-Temperatur des Primers. In Tabelle 3 ist das PCR-Programm für die Primer *NCSTN* Ex1 F/R und *NCSTN* Ex17 F/R beispielhaft dargestellt.

Step 1:	95°C	15 min
Step 2:	95°C	30 sec
Step 3:	65°C	30 sec
Step 4:	72°C	60 sec
Step 5:	go to Step 2	29 x
Step 6:	72°C	10 min
Step 7:	25°C	30 sec

**Tabelle 3: PCR-Protokoll für *NCSTN* Ex1 und Ex17 Forward und Reverse**

### 3.2.7 Agarose-Gelelektrophorese

Der Erfolg der PCR wurde mittels Agarose-Gelelektrophorese kontrolliert. Die negativ geladene DNA sedimentiert unter Einfluss eines elektrischen Felds innerhalb einer ionischen Pufferlösung. Zur visuellen Darstellung der Fragmente wird ein Farbstoff beigemischt. Ein angesetzter Ladder (Fragmentgemisch) dient als Marker. Die Fragmentgrößen des Markers sind bekannt und können mit den PCR-Fragmenten verglichen werden. Idealerweise zeigt das Ergebnis der Elektrophorese dichte Banden sedimentierter DNA. Sie sind Nachweis für die PCR- und Primerqualität und Primerspezifität, da die amplifzierten DNA-Abschnitte folglich in großer Menge vorhanden sein müssen. Bei der Gelelektrophorese wurde ein Gel aus 1,5 % Agarose (Biozym DNA Agarose; Art.Nr.87055) und 1xTris-Bor-EDTA verwendet. Das Porenvolumen des 1,5 %igen Gels eignet sich gut zur Trennung der DNA. Zur Einfärbung wurde 2,5 µl Midori Green (NIPPON Genetics Midori Green Advanced DNA Stain) auf 100 ml Agarose verwendet. Zum Beschweren der DNA-Moleküle wurde je 5 µl Blue Juice (10 ml Blue Juice auf 40 ml 1xTris-Bor-EDTA) auf 1,5 µl PCR-Produkt gegeben. Eine DNA Ablagerung im Gel sollte somit ermöglicht werden. Der verwendete Ladder war der Thermo Scientific GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder. Das elektrische Feld wurde mit dem BIORAD Power PAC 300 bei 120 V und 400 mA angesetzt.

### 3.2.8 Auswertung

Die visuelle Bewertung der PCR-Produktqualität erfolgte mit der Geldokumentationsanlage Dark Hood DH-40 biostep (Software: Argus X1). Hierbei wurden die angefärbten Banden (Midori Green) mit Hilfe von UV-Licht sichtbar gemacht. Zur Dokumentation wurden die einzelnen Gele fotografiert. Ein gutes Ergebnis bei optimaler Puffer Konzentration und optimaler Annealing-Temperatur zeigte sich durch scharf abgegrenzte Banden.

### **3.2.8.1 Aufreinigung der PCR-Produkte**

Um die DNA aus den PCR-Zusätzen zu isolieren, wurden 96er PCR-Platten NucleoFast von Marchery-Nagel verwendet. In jedes Behältnis der Platten ist am Boden eine Membran eingelassen, die selektiv Nukleinsäuren herausfiltert. Je 20 µl PCR-Produkt wurde mit 100 µl LiChrosolv Wasser (Merck Millipore) vermengt und auf die Platte aufgetragen. Mit einer Millipore Ansaugpumpe wurde für 8 min ein Unterdruck von mit 500 mmHg an der NucleoFast Platte erzeugt, der die Diffusion der Lösung durch die Membran ermöglichte. Die aufgefangene und isolierte DNA wurde mit je 25 µl destilliertem Wasser eluiert. Hierbei reichte mehrmaliges Invertieren der Pipette, um die DNA in Lösung zu bringen.

### **3.2.8.2 PCR mit BigDye Terminator v3.1**

Das Sequenzierungsverfahren erfolgte nach dem Prinzip der Kettenabbruchmethode nach Sanger (Dideoxy-Methode) (Sanger et al., 1977). Dabei behilft man sich der Funktion der Dideoxynukleotide ddATP, ddGTP, ddCTP und ddTTP. Der Sequenzierungsansatz besteht neben einer Polymerase und Nukleosidtriphosphaten aus den oben genannten Dideoxynucleosidtriphosphaten. Da den Dideoxynukleotiden die 3'Hydroxylgruppe fehlt, kommt es bei Anlagerung an den zu synthetisierenden DNA-Strang zu einem Kettenabbruch (Hirsch-Kauffmann, 2004).

Die Markierung der Dideoxynukleotide mit Fluoreszenzfarbstoffen ermöglicht das Auslesen der DNA-Stränge. Dabei wandert sie mittels Elektrophorese durch eine Kapillare. Die DNA-Moleküle durchlaufen einen Laserstrahl und werden zur Fluoreszenz angeregt. Mit CCD-Kameras wird das emittierte Licht erfasst. Ein Prozessor rechnet den Lichteinfall in ein Kurvendiagramm um (Ottenwälder, 2006).

Für den Sequenzierungsprozess wurde das BigDye Terminator Kit v3.1 von Applied Biosystems verwendet. In Tabelle 4 ist ein Sequenzierungs-Ansatz exemplarisch dargestellt. Das PCR-Programm wurde mit einem BIO-RAD S1000 Thermal Cycler durchgeführt (Tabelle 5).



	<b>Einzelansatz</b>	<b>Pro Platte hergestellter Mix</b>	<b>Anzahl Proben und Überschuss</b>	<b>für F- und R-Platte</b>
Mix		60		130
Big Dye Terminator v3.1	0,5	30		65
5xBig Dye Seq.-Buffer	1,5	90		195
Primer (10pmol/yl)	1			
aufgereinigtes PCR-Produkt	2			
Summe	5			

**Tabelle 4: PCR-Ansatz mit BigDye Terminator v3.1**

Step 1:	95°C	1 min
Step 2:	96°C	10 sec
Step 3:	50°C	5 sec
Step 4:	60°C	90 sec
Step 5:	goto Step 2	24 x
Step 6:	14°C	10 min

**Tabelle 5: PCR-Protokoll mit BigDye Terminator v3.1**

Tabelle 6, Übersicht über verwendete Forward- und Reverse Primer und untersuchte Exons im Sequenzierungsverfahren.

Gene/Exon	Primername	Forward Primer (5'-3')	Primername	Reverse Primer (5'-3')	Produkt (bp)
<b>APH1A (Chr1)</b>					
1	APH1A_Ex1_F	TCCCATTTGCCT GTCCTG	APH1A_Ex1_R	AGTTCCTCCAGC CCCTTC	234
2-3	APH1A_Ex2-3_F	TTGATTTCTCTG GCTCCAC	APH1A_Ex2-3_R	AGACTTCCCTAG AGGAGGGG	530
4-5	APH1A_Ex4-5_F	TCAGTGGTGAAC AGGCAATAG	APH1A_Ex4-5_R	AGTGAGGATAC CCTTTCCCC	544
6	APH1A_Ex6_F	TATGGGGATTAG GTCGAGGG	APH1A_Ex6_R	AGTCATGGGCA GTGGACAG	248
7	APH1A_Ex7_F	TTGTTGTGTCCA GGACTCCC	APH1A_Ex7_R	ATACAGGGCGA GGACATCAG	201
<b>APH1B (Chr 15)</b>					
1	APH1B-Ex1_F	AGGCCCTAGCGT TTACCC	APH1B-Ex1_R	CTGAAACGCAA CAAGGTCG	470
2a	APH1B-Ex2a_F	ACCAAGGAAAA TGCACCGTT	APH1B-Ex2a_R	GGCTGGAATGT ACCAATCTCTT	493
3	APH1B-Ex3_F	TTGAAAATTTGC TGGGTTTGT	APH1B-Ex3_R	GGCCAAGGCAG TAATAACAAC	353
4	APH1B-Ex4_F	CAGGAAGAACA TAAGCACCTT	APH1B-Ex4_R	CCACTGAAATTC CTAAGCCAGT	325
5	APH1B-Ex5_F	AAACTCTCTTGC TGAGGTGTGGT	APH1B-Ex5_R	GGTGGTCTTTTT GTGGTAAGACTT	408
6	APH1B-Ex6_F	TTTGGTGAAACA CACCCAAG	APH1B-Ex6_R	TTTCAGAAAAAG GCACAGTTG	359
<b>PSENEN (Chr 19)</b>					
1-3 (cod. ex1 u. ex2)	PSENEN_Ex1-3_F1	CCTCTCCAGGCG CTTACCAA	PSENEN_Ex1-3_R	CCAGCCTTCCCT TCTCACCC	1176
	PSENEN_Ex1-3_F2	GGATTGAGGGC CTGGACTCTT			453
4 (cod. ex3)	PSENEN_Ex4_F	GAGAGGGGGAA GCGGGGAAT	PSENEN_Ex4_R	GCCTCGTACAAA GCTCTCAACA	527
<b>PSEN1 (Chr 14)</b>					
3 (cod.ex1)	PSEN1_Ex3_F	TTTCTTTCCCTTT TCAGAACC	PSEN1_Ex3_R	CTCAGAGGTGA GGGGAGATG	226
4 (cod.ex2)	PSEN1_Ex4_F	CCGTTACCTTGA TTCTGCTG	PSEN1_Ex4_R	AGGCCTTCAAGG TGATGATG	391
5 (cod.ex3)	PSEN1_Ex5_F	GGAGGTGGTAA TGTGGTTGG	PSEN1_Ex5_R	TTACACATGCAC CTGGCTTC	402
6 (cod.ex4)	PSEN1_Ex6_F	CTTTTAAAGGGT TGTGGGACCT	PSEN1_Ex6_R	CTGCCTCTTCGA ATTAAAGAGCT	669
7 (cod.ex5)	PSEN1_Ex7_F2	GGACTACATTAC TGTTGCACTCCT			257
8 (cod.ex6)	PSEN1_Ex8_F	TTTCCTTCGTTA ATTCTCCCT	PSEN1_Ex8_R	GAAACAAAGAG ATCTGCAGGAGT	331

# Material und Methoden

				T	
<b>9 (cod.ex7)</b>	<i>PSEN1</i> _Ex9_F	GAAATGATGGCT TGTGTGTGTCT	<i>PSEN1</i> _Ex9_R	CTGTTAGCTTAT AACAGTGACCTT G	222
<b>10a (cod.ex8)</b>	<i>PSEN1</i> _Ex10a_F	TACAGCCCATGC TTTGTGG	<i>PSEN1</i> _Ex10a_R	TTCTCAAAAAGG TTGATAATGTAG C	375
<b>11 (cod.ex9)</b>	<i>PSEN1</i> _Ex11_F	GGGCAGTGATAT TTTTGAATTGT	<i>PSEN1</i> _Ex11_R	AACTGCCTTAAA GGGACTGTGT	273
<b>12 (cod.ex10)</b>	<i>PSEN1</i> _Ex12_F	AAGACTTGTGAT TGAGTTTGGCC	<i>PSEN1</i> _Ex12_R	AAATCACCTTTG TCCTCCCC	308
<b><i>PSEN2</i></b>					
<b>4</b>	<i>PSEN2</i> -Ex4_F	GACTTGTGTCCA AGTCTCCAGGT	<i>PSEN2</i> -Ex4_R	TCATCATTACTT CCCTTCTCCCT	381
<b>5</b>	<i>PSEN2</i> -Ex5_F	CCGTGCATTACA TGGATAGG	<i>PSEN2</i> -Ex5_R	CCCTGGCAACTC AGCCC	335
<b>6</b>	<i>PSEN2</i> -Ex6_F	GAATCACTCAAG GTGGGGAG	<i>PSEN2</i> -Ex6_R	CATGGTGTGGGG CAGAC	270
<b>7</b>	<i>PSEN2</i> -Ex7_F	TTAGAATTTGTG GCGCTTGG	<i>PSEN2</i> -Ex7_R	CACTTGTGCCAC ATGGAGAG	180
<b>8</b>	<i>PSEN2</i> -Ex8_F	TGCTAGGCTGTA ATGCCTCC	<i>PSEN2</i> -Ex8_R	GATTGGCCCTG GACATC	334
<b>9</b>	<i>PSEN2</i> -Ex9_F	GCTACAGGGCA GGCTCTTC	<i>PSEN2</i> -Ex9_R	GTCAACTCTGAA AGCCACGG	266
<b>10</b>	<i>PSEN2</i> -Ex10_F	CTGCAGGCAGCC ACTGTTAG	<i>PSEN2</i> -Ex10_R	AGAGCTGGGTG CAGGTAGG	207
<b>11</b>	<i>PSEN2</i> -Ex11_F	TGTGTCCCCTC CTCACG	<i>PSEN2</i> -Ex11_R	ACCTCTGTCTC CGCTCC	215
<b>12</b>	<i>PSEN2</i> -Ex12_F	CTGGGCCAGAGT TTCTCTTC	<i>PSEN2</i> -Ex12_R	CACCACAATGA GGACCCTG	258
<b>13</b>	<i>PSEN2</i> -Ex13_F	ACCATGACTCAC AGCTCCTG	<i>PSEN2</i> -Ex13_R	AAAACATACA ACTGCATCCAAT G	288
<b><i>NCSTN</i> (Chr 1)</b>					
<b>1</b>	<i>NCSTN</i> _Ex1_F	CATAGCTGGGTG CCATGTAG	<i>NCSTN</i> _Ex1_R	GACATGGATGTT ACTTAGTATCTA GGG	376
<b>2</b>	<i>NCSTN</i> _Ex2_F	TACCCAAGCCAT ACTTCAGGTT	<i>NCSTN</i> _Ex2_R	TGCCTAGCTTGA CAGACGGT	341
<b>3</b>	<i>NCSTN</i> _Ex3_F	GGATAAAAGAT ACGCAGAATCA GT	<i>NCSTN</i> _Ex3_R	CTGGTTCTCCCT TTCAGCTT	667
<b>4</b>	<i>NCSTN</i> _Ex4_F	CCCCCTTACATG GTTCTGCT	<i>NCSTN</i> _Ex4_R	TGGCCCATAGGA ATTGGAGT	1049
<b>5a</b>	<i>NCSTN</i> _Ex5a_F	TATCCCCATCC TTCCCTTC	<i>NCSTN</i> _Ex5a_R	TGCTAGGAGCTG GCAGTGTC	193
<b>5b</b>	<i>NCSTN</i> _Ex5b_F	AGTCCCCCTATT CCCCATC	<i>NCSTN</i> _Ex5b_R	CCACACCTGGCT AGAAAAATAAT C	242
<b>6</b>	<i>NCSTN</i> _Ex6_F	CTCCTTCTGGGA	<i>NCSTN</i> _Ex6_R	CTGGTTCCACTC	280

		TGTAAGGG		TCCCTCTG	
7,8	NCSTN_Ex7-8_F	AGCTCCATCCAA AGCACCTT	NCSTN_Ex7-8_R	TTCTCCAACCAG TAGCCACTCT	946
9,10	NCSTN_Ex9-10_F	TTGAGGTGACCT GAGATAGTCGT	NCSTN_Ex9-10_R	AACAGCTGTGGT GTTTCATCCTT	620
11	NCSTN_Ex11_F	AGGAAATTCAG AGAGCCTTGGT	NCSTN_Ex11_R	CTGAAGTTCTGG AGGGGGTAGT	457
12,13	NCSTN_Ex12-13_F	ATTGTCTCTCAC CCCTTTCTTCT	NCSTN_Ex12-13_R	AGACTGGCCAG ATAGACTGGAGT	641
14-16	NCSTN-Ex14-16-F	CCCATGACTGGG TCTCCACT	NCSTN-Ex14-16-R	GCCTCCTAAGGG AACATGCT	1238
17	NCSTN_Ex17_F	TAGGCTGGAGA GATGTTGCC	NCSTN_Ex17_R	GGAGCGGAGGA AGGGAG	465

**Tabelle 6: Verwendete Forward- und Reverse Primer der Gene *APH1A/B*, *PSENEN*, *PSEN1/2* und *NCSTN* (von Dr. Gertrud Eckstein, Helmholtz-Zentrum München; PCR Primer ermittelt mit ExonPrimer Software; Analyse auf Mutationen mit Staden Package 2.0)**

## Beschreibung der Kopplungsanalyse

Im Institut für Humangenetik am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München wurde von Matias Wagner und Dr. Peter Lichtner eine Kopplungsanalyse mit den Blutproben der Patienten der Gruppe „F“ durchgeführt. Diese sollte Hinweise geben, ob der familiären Acne-inversa-Erkrankung ein monogenes oder komplexgenetisches Geschehen zugrunde liegt. Die Untersuchung bildet eine Grundlage für weitere Analysen, wie beispielsweise eine Whole-Exome-Sequenzierung. Genotyp Daten wurden mit einem GSA-Chip (Illumina) erhoben (verwendet wurden SNP Marker/ je 2 Marker pro cM). Die Kopplungsanalyse wurde mit dem Programm MERLIN berechnet.

Bei der Kopplungsanalyse handelt es sich um ein molekulargenetisches Kartierungsverfahren, mit dem überprüft wird, ob ein potentiell krankheitsverursachendes Gen mit einem bestimmten genetischen Marker gekoppelt vererbt wird. Hierbei sollen chromosomale Regionen identifiziert werden, die statistisch häufiger mit dem Phänotyp einer Erkrankung weitergegeben werden (Müller-Myhsok, 1997).

Das Verfahren wird angewendet, wenn innerhalb einer Familie mehrere Familienmitglieder von einer Krankheit betroffen sind. Als Marker werden u.a. Polymorphismen verwendet, deren Positionen im Genom bekannt sind. Die Kopplungsanalyse untersucht, welche Allele stets dann vorkommen, wenn eine Erkrankung vorliegt. Bei gesunden Familienmitgliedern sollten die entsprechenden Allele daher nicht vorkommen. Bei Gruppe „F“ wurde eine parametrische Kopplungsanalyse durchgeführt. Bei der parametrischen Untersuchung wird

die Penetranz des vermeintlichen Krankheitsgens geschätzt (die Wahrscheinlichkeit, dass das Gen sich auf den Phänotyp auswirkt) und die Anzahl der in der Familie nachgewiesenen Genotypen einbezogen.

Ein Elternteil der Gruppe „F“ muss heterozygot für den Marker sein, auch sollte der Marker möglichst hochpolymorph sein, um die Zuordnung zu erleichtern. Unter Berücksichtigung der Anzahl meiotischer Rekombinationen zwischen zwei Markern wird die Position eines Quantitative Trait Locus zu einem bekannten Locus bestimmt. Die Wahrscheinlichkeit für eine Rekombination ist abhängig vom Abstand der Marker. Je größer der Abstand (gemessen in Centi-Morgan (cM); ca. 1Mbp), desto wahrscheinlicher ist eine Rekombination durch ein Crossover zwischen homologen Chromosomen während der Meiose. Die Rekombinationsfrequenz  $\Theta = 0$  entspricht einer vollständigen Kopplung beider Genloci. Liegen sie auf unterschiedlichen Chromosomen, ist  $\Theta = 0,5$  (Müller-Myhsok, 1997).

Der LOD-Score berechnet die statistische Wahrscheinlichkeit für eine Kopplung (10er Logarithmus des Quotienten aus Wahrscheinlichkeit für eine Kopplung / Wahrscheinlichkeit für eine Nichtkopplung). Liegt er bei den 10 informativen Meiosen der Familie „F“ bei oder nahe 3,0, würde dieser Wert für eine signifikante Kopplung sprechen und somit auf eine Region für eine mögliche pathogene Mutation hinweisen. Das für die parametrische Analyse angewandte Modell ging von einem autosomal-dominanten Erbgang aus, die Allelfrequenz der pathogenen Mutation (= relative Häufigkeit der Allele in der gesamten Population) wurde mit 0,001 angenommen (Phänokopierate = 0), bei einem oder zwei vererbten betroffenen Allelen wurde eine Penetranz von jeweils 0,99 gewählt (= vollständige Penetranz).

### **Auswertung des Fragebogens**

Die statistische Auswertung des Fragebogens wurde über die Programme SPSS Statistics® 23 und Microsoft Office Excel® 2010 und 2016 für Microsoft Windows® durchgeführt. Für die Darstellung der Ergebnisse des Fragebogens wurden mit den Programmen deskriptive Statistiken, Häufigkeitsverteilungen mit Mittelwerten, Median und Standardabweichungen berechnet. Zur Untersuchung der Normalverteilung der Stichproben wurde der Shapiro-Wilk-Test angewendet. Auf Unterschiede in den Varianzen wurde mit dem Levene-Test geprüft. Bei Normalverteilung der unabhängigen Stichproben mit unterschiedlichen Varianzen wurde der zweiseitige t-Test verwendet, bei nicht-normalverteilten Stichproben der Mann-Whitney-U-Test. Das Signifikanzniveau wurde mit  $p = 0,05$  angegeben.

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Ergebnisse des Fragebogens**

Die in dieser Arbeit untersuchte Gruppe bestand aus 44 Personen. 36 Patienten mit Acne inversa Phänotyp beantworteten den Fragebogen. Das Alter der Patienten betrug im Durchschnitt 39,5 Jahre. Der jüngste Teilnehmer war 17, der älteste 60 Jahre alt.

Die Patientengruppe aus dem Raum München „M“ bestand aus 24 Patienten, darunter 9 weibliche und 15 männliche Patienten. Aus dieser Gruppe haben 20 Studienteilnehmer mit Acne inversa Phänotyp den Fragebogen (11 Anhang) beantwortet. Bei 17 Patienten wurde im Zuge einer klinischen Untersuchung der Schweregrad (Hurley Score 1-3) bestimmt. 23 Patienten dieser Gruppe haben an der molekulargenetischen Untersuchung teilgenommen, darunter 2 Familienmitglieder ohne Phänotyp.

Die zweite Patientengruppe aus dem Raum Gütersloh „G“ bestand aus 8 Patienten, darunter 6 weibliche und 2 männliche Patienten. Aus dieser Gruppe beantworteten 8 Patienten den Fragebogen.

Aus der dritten Patientengruppe, einer Familie „F“ mit insgesamt 12 Mitgliedern, beantworteten alle den Fragebogen. 8 Familienmitglieder wiesen den Acne inversa typischen Phänotyp auf.

#### **4.1.1 Erstaufreten und Verwandtschaftsbezug**

Der Zeitpunkt des Erstauftretens von Symptomen wurde durchschnittlich mit 23,6 Lebensjahren (Median = 19,5 Jahre) angegeben. Erste Symptome der Krankheit zeigten sich bei einem Patienten im Alter von 12 Jahren, bei einem anderen dagegen erstmalig im Alter von 53 Jahren. In den Gruppen „G“ und „M“ trat die Erkrankung mit durchschnittlich 24,9 Jahren (Median = 23,5 Jahre) erstmalig auf, bei Gruppe „F“ mit durchschnittlich 19,1 Jahren (Median = 17 Jahre). Der Unterschied zwischen dem Krankheitsbeginn der Gruppen „G“ und „M“ im Vergleich zu Gruppe „F“ war nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test:  $U = 77,5$ ;  $p = 0,1976$ ) (Abbildung 6).

Bei Inspektion der betroffenen Stellen von 17 Patienten (Gruppe „M“) zeigten sich Läsionen, die sich in ihrer Ausprägung dem Hurley Grad 1 ( $n = 3$ ), Hurley Grad 2 ( $n = 6$ ) und Hurley Grad 3 ( $n = 8$ ) zuordnen ließen.

Bei der Frage nach bekannten Fällen von Acne inversa in der Verwandtschaft gaben 25 % (n = 7) der Patienten aus Gruppe „G“ und „M“ an, Verwandte mit Acne inversa typischen Krankheitssymptomen zu kennen.

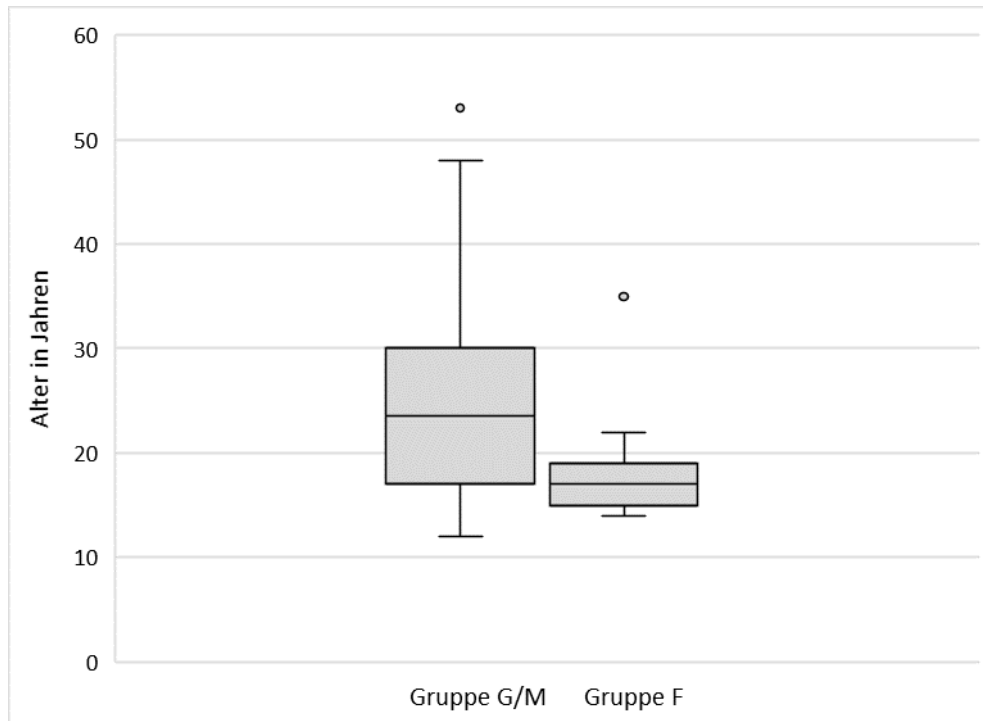


Abbildung 6: Krankheitsbeginn (Vergleich der Gruppen „G“/„M“ mit Gruppe „F“)

#### 4.1.2 Körpergewicht

Der BMI (Body Mass Index; BMI = Gewicht in kg/Körpergröße<sup>2</sup> in cm) wurde anhand von Größe, Gewicht und unter Berücksichtigung des Geschlechts und des Alters der Studienteilnehmer berechnet. Die Einteilung erfolgte in die Kategorien:

Untergewicht (BMI < 20 m\*; < 19 w\*), Normalgewicht (BMI 20 - 25 m\*; 19 - 24 w\*), Übergewicht (BMI 26 - 30 m\*; 25 - 30 w\*), Adipositas (BMI 31 - 40) und starke Adipositas (BMI > 40) \*(m = männlich und w = weiblich). Dabei lagen 82 % (n = 23) der Patienten aus Gruppe „G“ und „M“ über dem Normalgewicht, 46,4 % waren adipös oder stark adipös (n = 12 und n = 1). 1 Patient lag unter dem Normalgewicht (BMI 18,4 m\*). In Gruppe „F“ hatten 62,5 % (n = 5) Normalgewicht, 2 Patienten Untergewicht (BMI = 18,4 w\* und BMI = 18,2 w\*) und 1 Patient Übergewicht (BMI = 29,1 m\*) (Abbildung 7).

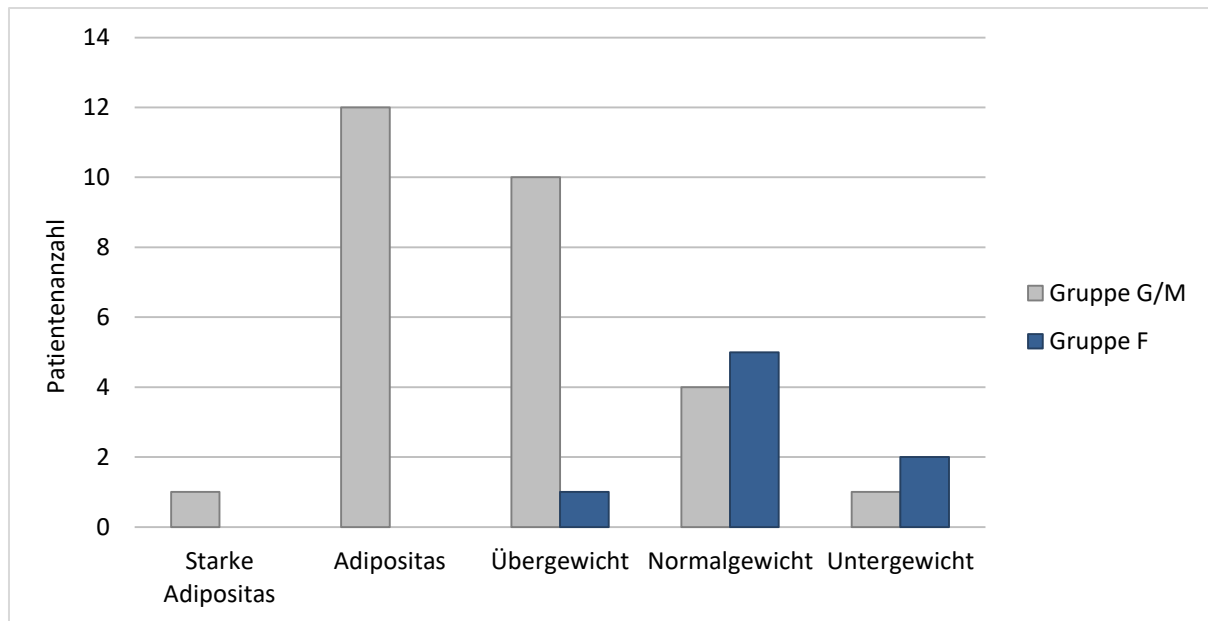


Abbildung 7: Body Mass Index (BMI) Klassifikationen (Vergleich der Gruppen „G“/„M“ mit Gruppe „F“)

Der Body Mass Index der Gruppen „G“ und „M“ war signifikant höher als der Body Mass Index der Gruppe „F“ ( $t(23) = 4,62$ ;  $p = 0,0001$ ) (Abbildung 8).

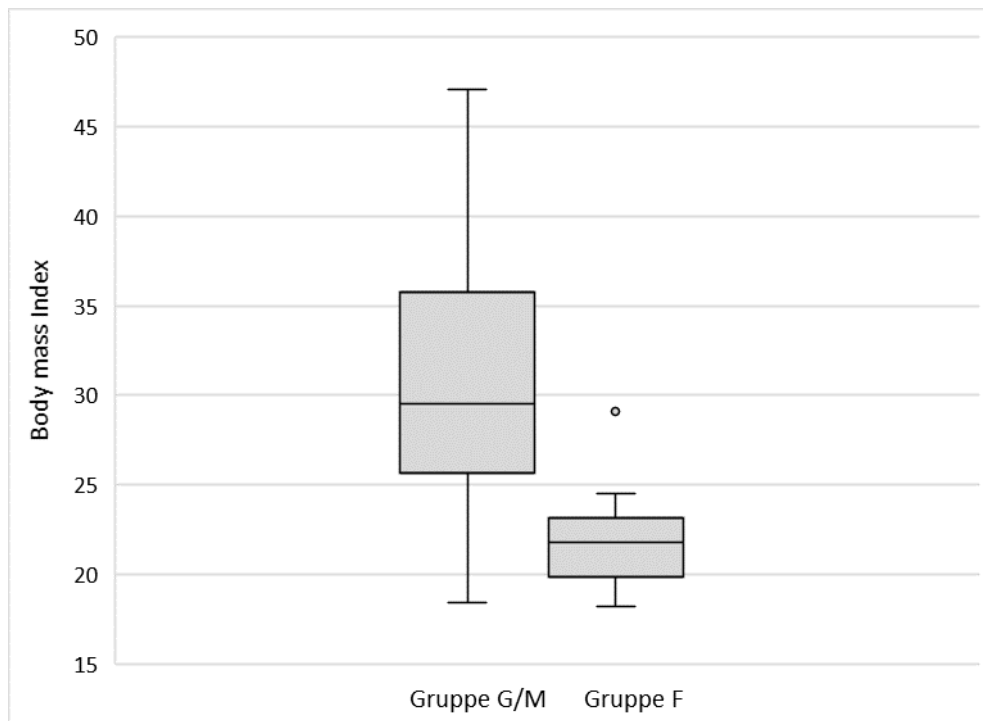


Abbildung 8: Body Mass Index (BMI) Verteilung (Vergleich der Gruppen „G“/„M“ mit Gruppe „F“)



Der durchschnittliche Body Mass Index (BMI) lag bei den klinisch untersuchten Patienten der Gruppe „M“ (n = 17) mit Hurley Grad 1 bei 27,9 (Median = 25,8; n = 3), Hurley Grad 2 bei 30,6 (Median = 31; n = 6) und Hurley Grad 3 bei 31,3 (Median = 29,7; n = 8). Der Vergleich des BMI von Patienten mit Hurley Grad 1 und 2 mit Hurley Grad 3 zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen dem BMI und der Schwere der Erkrankung ( $t(23) = -0,42$ ;  $p = 0,6775$ )(Abbildung 9).

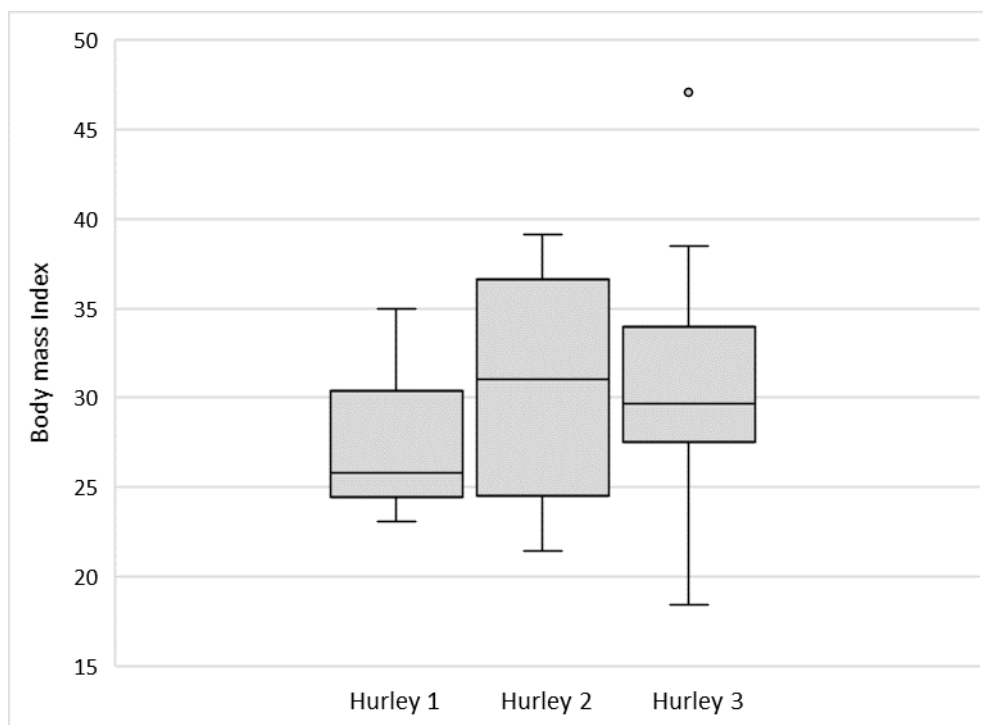


Abbildung 9: Vergleich Body Mass Index (BMI) und Schwere der Erkrankung (Angabe in den Hurley Graden 1-3)

#### 4.1.3 Betroffene Körperstellen

Bezüglich der Frage zum Befall der betroffenen Körperstellen und dem subjektiven Empfinden der Patienten für die Ausprägung der Läsionen (hier: „stark“, „moderat“, „leicht“, „nicht betroffen“) wurden acht Körperstellen unterschieden (Abbildung 10). Dabei waren 69,4 % (n = 25) Patienten von Läsionen im Achselbereich und 63,9 % (n = 23) im Leistenbereich betroffen. An den Achseln (n = 16) und der Leiste (n = 14) waren die Läsionen am stärksten ausgeprägt. Bei der frei zu beantwortenden Frage nach „sonstigen Stellen“ wurden die Bereiche „Oberschenkel“ (n = 6), „Ellenbogen“ (n = 1), „Ohr“ (n = 3), und „Oberarm“ (n = 1) angegeben.

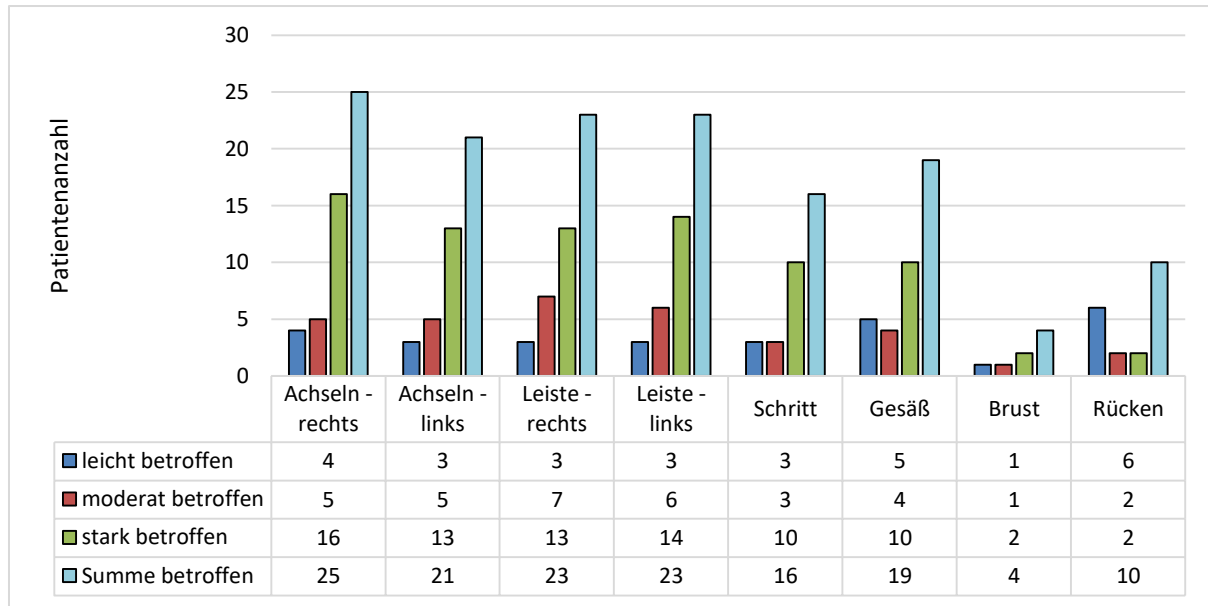


Abbildung 10: Subjektiv empfundene Ausprägung der Läsionen an den entsprechenden Körperstellen

#### 4.1.4 Zigarettenkonsum

Bei der Frage nach dem Nikotinkonsum gaben insgesamt 61,1 % ( $n = 22$ ) an, regelmäßig Zigaretten zu rauchen. Bezogen auf die Grundgesamtheit der Gruppen „G“ und „M“ waren 78,6 % ( $n = 22$ ) Raucher. Im Durchschnitt waren die Patienten seit 21,6 Jahren Raucher. 77,3 % ( $n = 17$ ) der Patienten rauchten bereits vor dem Auftreten der Erkrankung Acne inversa. Durchschnittlich rauchten sie bereits 10,1 Jahre vor Ausbruch der Erkrankung. In Gruppe „F“ waren alle Nichtraucher (Abbildung 11).

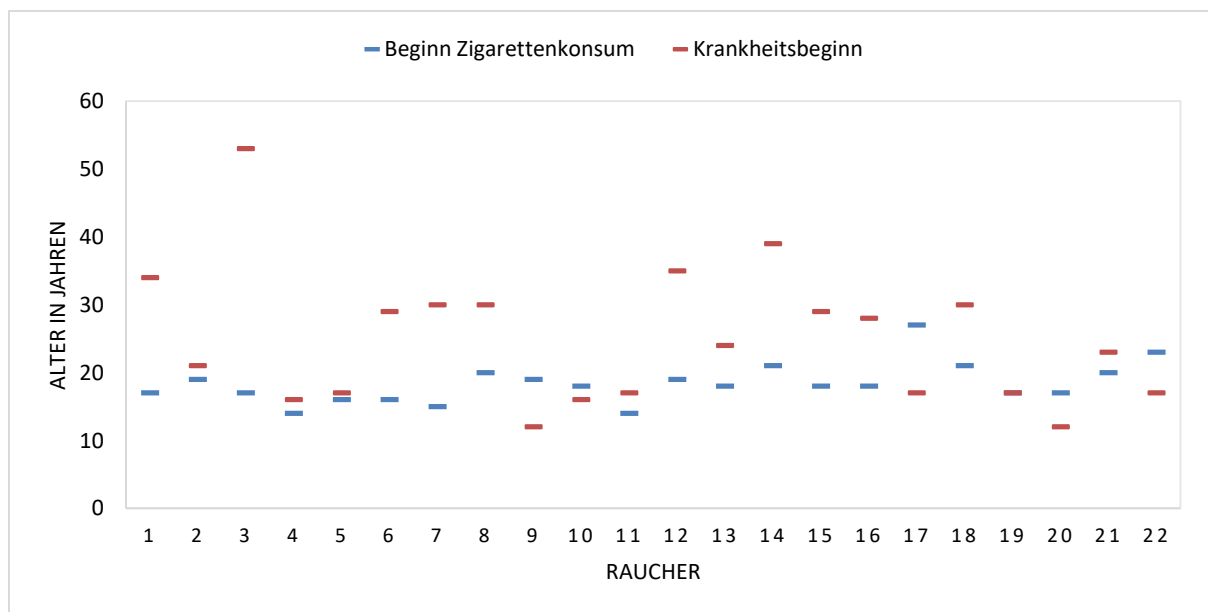


Abbildung 11: Vergleich zwischen Krankheitsbeginn und Beginn des Nikotinkonsums

Der Mittelwert an gerauchten Zigaretten betrug 17 pro Tag. Der Vergleich zwischen den Schweregraden der Erkrankung nach Hurley und dem Zigarettenkonsum ergab einen signifikanten Unterschied ( $p = 0,047$ ) hinsichtlich der Anzahl der gerauchten Zigaretten zwischen den 17 klinisch untersuchten Patienten aus der Gruppe „M“ mit Hurley Grad 1 und Hurley Grad 3 (Abbildung 12).

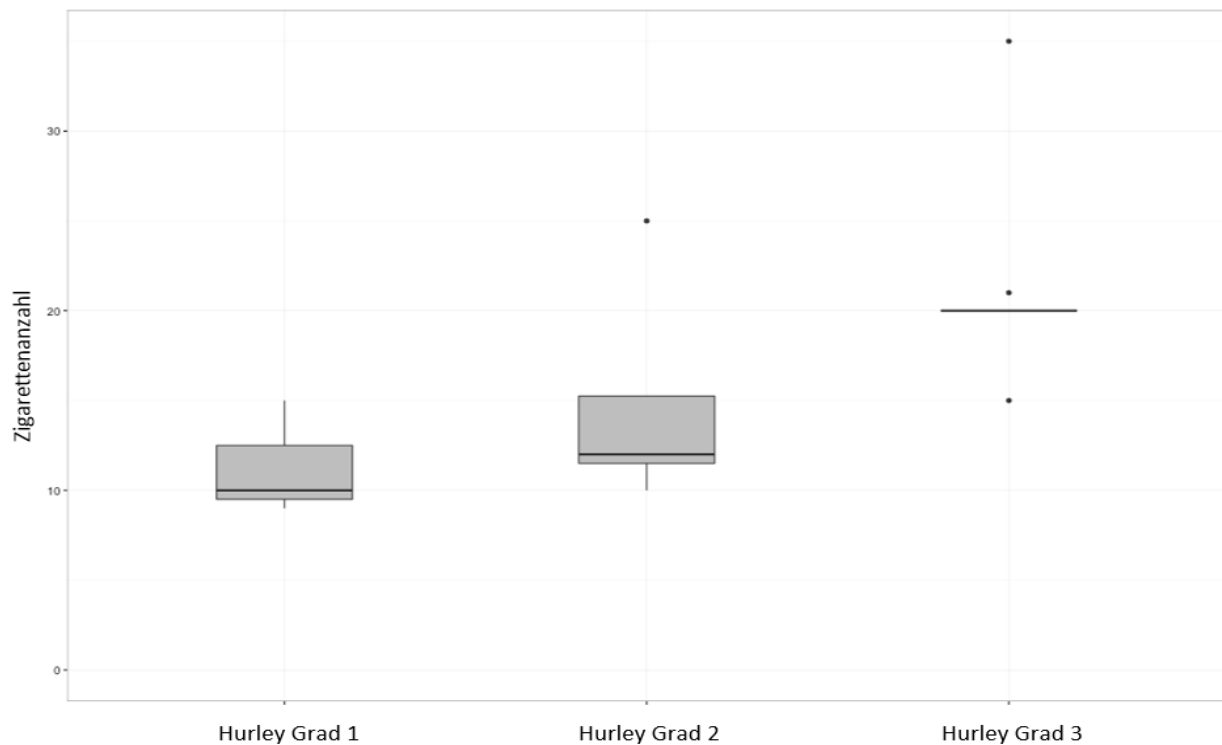


Abbildung 12: Vergleich der Zigarettenanzahl pro Tag und dem Schweregrad der Erkrankung (Hurley Grad 1-3) der Gruppe „M“

#### 4.1.5 Acne vulgaris im Jugendalter

27,8 % ( $n = 10$ ) der befragten Studienteilnehmer litten während der Pubertät an Akne (hier: Pubertätsakne, Acne vulgaris). Von den 17 klinisch untersuchten Patienten der Gruppe „M“ erklärten 4 Patienten, an einer Pubertätsakne erkrankt gewesen zu sein. Von diesen 4 Patienten hatten 2 Patienten Hurley Grad 3 und 2 Patienten Hurley Grad 2. Von den weiteren 13 klinisch untersuchten Patienten, die nicht an Pubertätsakne litten, hatten 3 Patienten Hurley Grad 1, 4 Patienten Hurley Grad 2 und 6 Patienten Hurley Grad 3.

#### 4.1.6 Hauterkrankungen, Allgemeinerkrankungen und Allergien

88,9 % ( $n = 32$ ) der Patienten verneinten die Frage nach sonstigen Hauterkrankungen. 11,1 % ( $n = 4$ ) gaben bei der offenen Frage nach der Art der Hauterkrankung an: „Pyoderma

gangraenosum“ (n = 1), „Schuppenflechte“ (n = 1) und „Neurodermitis“ (n = 2). Die Frage nach Allgemeinerkrankungen beantworteten 30,6 % (n = 11) aller Patienten positiv. Bei der offenen Frage, um welche Allgemeinerkrankung es sich handelte, waren die häufigsten Antworten „Bluthochdruck“ (n = 7) und „Diabetes“ (n = 4). Hinsichtlich der offenen Frage nach bekannten Vorerkrankungen in der Verwandtschaft führten die Patienten unter anderem „Bluthochdruck“ (n = 8), „Diabetes“ (n = 12) und „Alzheimer“ (n = 6) auf.

33,3 % (n = 12) gaben an, unter Allergien zu leiden. Bei der offenen Frage nach dem Allergen, nannten sie unter anderem „Hausstaubmilben“ (n = 4), „Katzenhaar“ (n = 3), „Pflaster“ (n = 3), „Penicillin“ (n = 3), „Schimmelpilze“ (n = 2) und „Cortison“ (n = 1).

25 % (n = 9) der Patienten litten an einer Hyperhidrose im Sinne von übermäßig starkem Schwitzen.

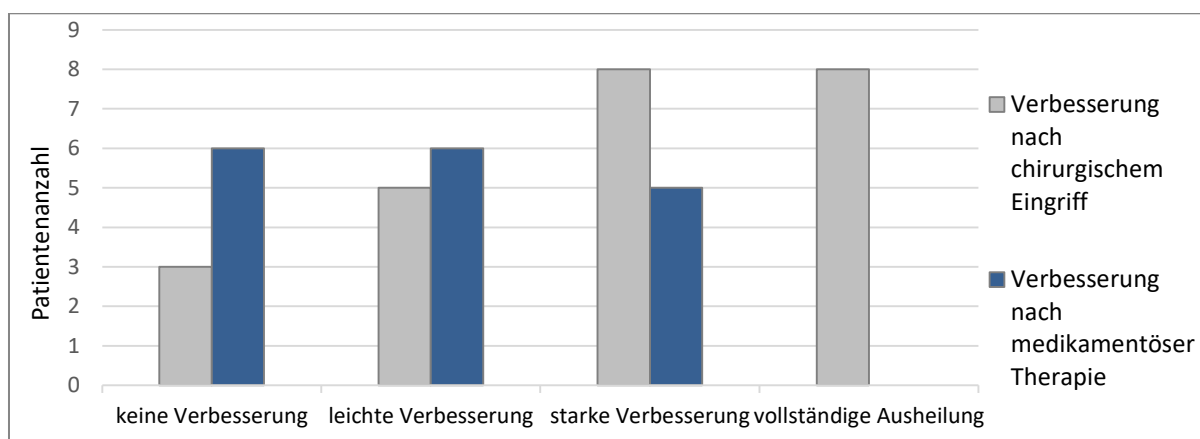
Das subjektive alltägliche Stresslevel wurde mit Hilfe der Likert-Skala bewertet, wobei Level 0 einer geringen Stressbelastung und Level 10 einer sehr hohen Stressbelastung entsprach. 33,3 % (n = 12) gaben die geringste Stufe Level 0 an, 58,3 % (n = 21) bewerteten ihr persönliches Stresslevel mit 0 – 5, 41,7 % (n = 15) zwischen 6 – 10. 2 Patienten gaben das höchste Stresslevel auf der Likert-Skala an.

Die Frage, ob die Erkrankung Acne inversa eine Belastung für die Patienten sei, wurde von 75 % (n = 27) bejaht. Für 5,6 % (n = 2) stellte die Erkrankung eine rein „psychische Belastung“ dar. 44,4 % (n = 16) gaben an, unter den einhergehenden „Bewegungseinschränkung und/oder Schmerzen“ zu leiden. 25 % (n = 9) Patienten empfanden sowohl die mit der Krankheit einhergehenden Probleme psychisch belastend und klagten über Bewegungseinschränkungen und/oder Schmerzen.

### **4.1.7 Therapien**

Die Fragen nach bisher durchgeführten Therapien bei Acne inversa und dem, von den Patienten subjektiv empfundenen Behandlungserfolg wurden mit den Angaben „vollständige Ausheilung“, „starke Verbesserung“, „moderate Verbesserung“, „leichte Verbesserung“ oder „keine Verbesserung“ beantwortet. Dabei wurde zwischen einer „medikamentösen Therapie“ und einer „chirurgischen Therapie“ der Läsionen unterschieden. Die Angabe einer perioperativen Antibiotikagabe wurde bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Bei 85,7 % (n = 30) wurde eine Therapie durchgeführt. 68,6 % (n = 24) gaben eine operative Behandlung

von Acne inversa an. Von dieser Gruppe beschrieben postoperativ 33,3 % (n = 8) eine vollständige Ausheilung, 33,3 % (n = 8) eine starke Verbesserung, 20,8 % (n = 5) eine leichte Verbesserung und 12,5 % (n = 3) keine Verbesserung der Läsionen. Von den rein medikamentös behandelten Patienten (n = 17) berichteten 29,4 % (n = 5) von einer starken Verbesserung, 35,3 % (n = 6) von einer leichten Verbesserung und 35,3 % (n = 6) von keiner Verbesserung nach erfolgter rein medikamentöser Therapie. Kein Patient gab eine vollständige Ausheilung nach medikamentöser Behandlung an (Abbildung 13).



**Abbildung 13: Vergleich des subjektiv empfundenen Erfolgs nach medikamentöser Therapie und chirurgischem Eingriff**

6 Patienten gaben chirurgische Eingriffe mit sekundärer Wundheilung an. Davon beschrieben 2 Patienten eine starke Verbesserung und 3 Patienten eine vollständige Ausheilung der Läsionen. Ein Patient bemerkte keine Verbesserung. Bei primärer Wundheilung (n = 4) registrierten 2 Patienten eine leichte Verbesserung. 3 Patienten wurden nach dem Mendonca Schema mit Clindamycin 300 mg und Rifampicin 300 mg 1-0-1 therapiert. 2 Patienten nahmen eine leichte Verbesserung, 1 Patient eine starke Verbesserung der Acne inversa Symptome wahr (Tabelle 7).

	OP - primäre Wundheilung	OP - sekundäre Wundheilung	Clinda/Rif Mendonca*	Cortison
keine Verbesserung	1	1	0	1
leichte Verbesserung	2	0	2	0
starke Verbesserung	0	2	1	0
vollständige Ausheilung	1	3	0	0

**Tabelle 7: Subjektiv empfundener Therapieerfolg (\*Clindamycin 300mg/Rifampicin 300mg 1-0-1)**

## 4.2 Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung

### 4.2.1 Ergebnisse der Sequenzierung (Gruppe „M“)

Die molekulargenetische Untersuchung der  $\gamma$ -Sekretase von 23 Patienten der Gruppe „M“ umfasste die codierenden Regionen der Gene *APH1A* (Exon 1-7), *APH1B* (Exon 1-6), *PSENEN* (Exon 1-4), *PSEN1* (Exon 3-12), *PSEN2* (Exon 4-13) und *NCSTN* (Exon 1-17). Zur Auswertung wurde das DNA-Sequenzierungsverfahren nach Sanger angewendet. Bei 22 Patienten wurde keine Mutation in den in Tabelle 6 gelisteten Exons gefunden. Bei einem Patienten der Gruppe „M“ mit typischen Acne inversa Läsionen im Achsel – und Leistenbereich konnte eine Deletion in Exon 1 des *NCSTN* Gens nachgewiesen werden ((NM\_015331): c.38delG, p.(G13Efs\*15)) (Abbildung 14).

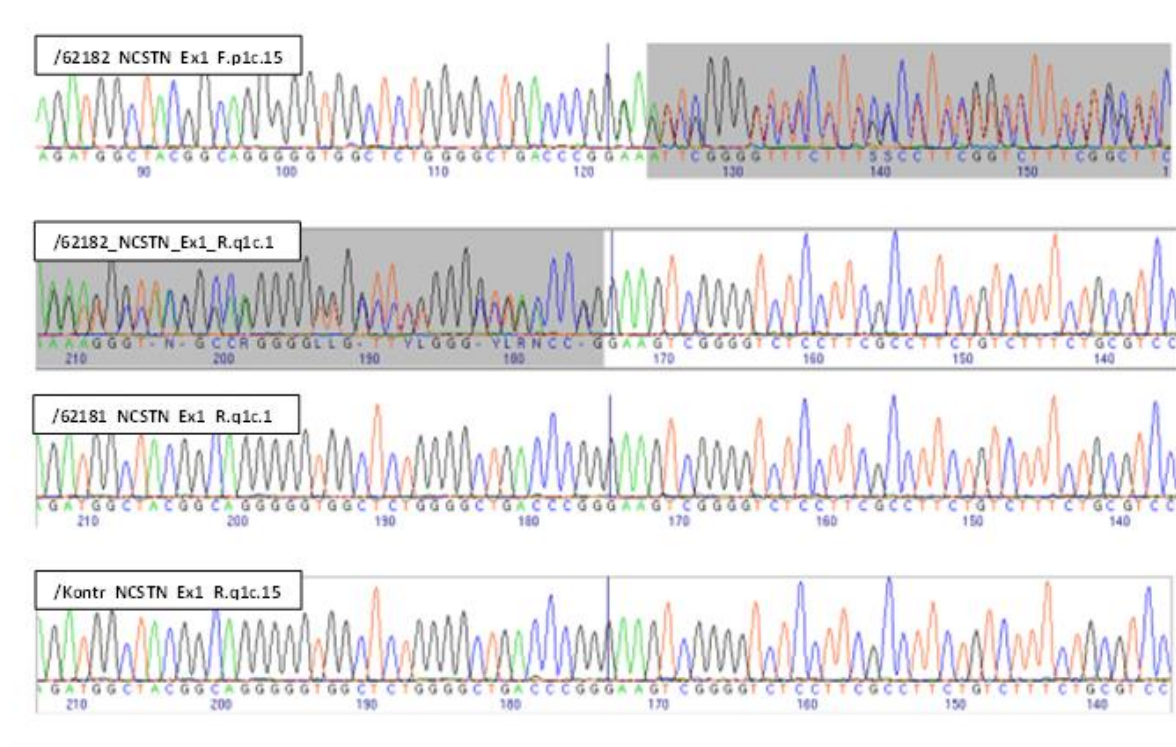


Abbildung 14: *NCSTN* Exon 1 - *NCSTN*(NM\_015331): c.38delG, p.(G13Efs\*15) (von Dr.Gertrud Eckstein, Helmholtz Zentrum München)

### 4.2.2 Ergebnisse der Kopplungsanalyse (Gruppe „F“)

Bei der aus 12 Familienmitgliedern bestehenden Gruppe „F“ (Abbildung 15) wurde eine parametrische Kopplungsanalyse durchgeführt. Die Untersuchung fand im Institut für Humangenetik am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München statt. Die Berechnung der LOD-Scores wurde von Matias Wagner und Dr. Peter Lichtner durchgeführt (Genotyp Datenerhebung mittels GSA-Chip (Illumina)).

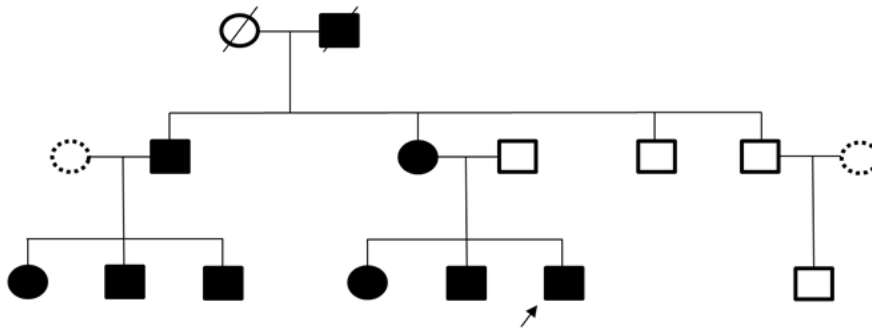


Abbildung 15: Stammbaum der Gruppe „F“ (↗ = Indexpatient; ○ / □ = weiblich / männlich; schwarz = AI Phänotyp)

Für das Analysemodell der parametrischen Untersuchung wurde eine Erkrankungsfrequenz = 0,001, Allelfrequenz der SNP Marker > 1%, die angenommene Penetranz des pathogenen Allels = 0,99 (homozygot und heterozygot), Phänokopierate = 0, und ein autosomal-dominanter Erbgang gewählt. Die Kopplungsanalyse hat ergeben, dass der LOD-Score an mehreren \*Bereichen des Genoms bei 1,5 lag. (Chromosom 2: 3\*, Chromosom 3: 2\*, Chromosom 5: 3\*, Chromosom 7: 1\*, Chromosom 8: 2\*, Chromosom 9: 1\*, Chromosom 11: 3\*, Chromosom 13: 2\*, Chromosom 14: 1\*, Chromosom 15: 1\*, Chromosom 16: 1\* und Chromosom 18: 1\*). Der LOD-Score von 1,5 wurde nie überschritten (Abbildung 16a-c).

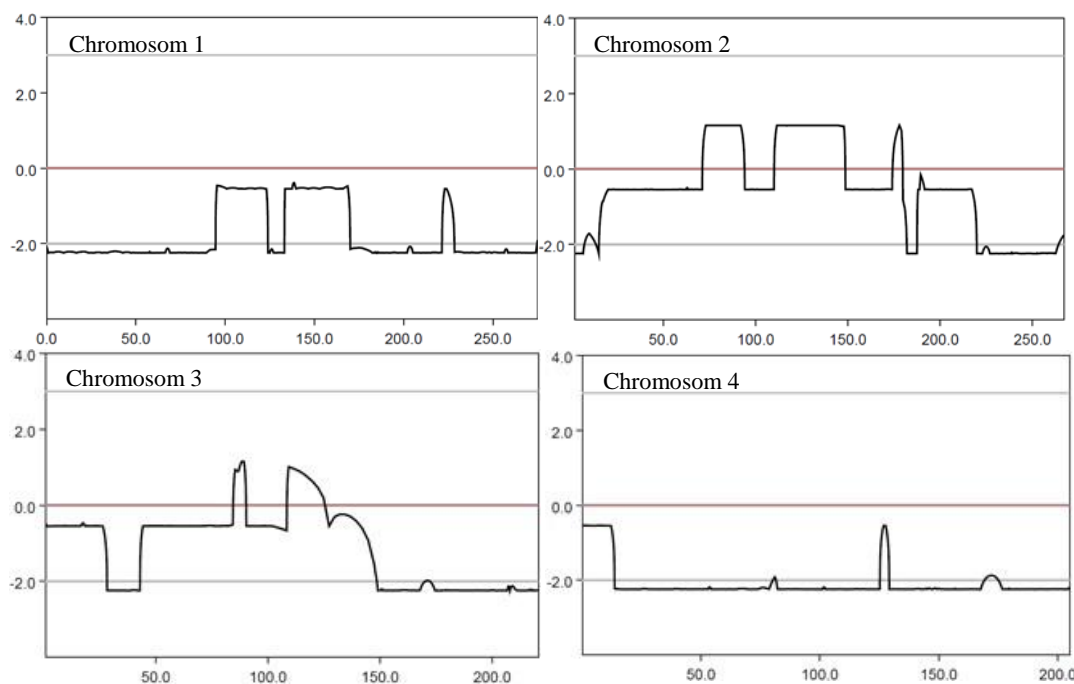


Abbildung 16a: LOD-Scores (logarithm of the odds) von Chromosom 1 – 4 (Gruppe „F“); x-Achse = Markerposition (cM), y-Achse = LOD-Score) (modifizierte Grafik von Matias Wagner und Dr. Peter Lichtner)

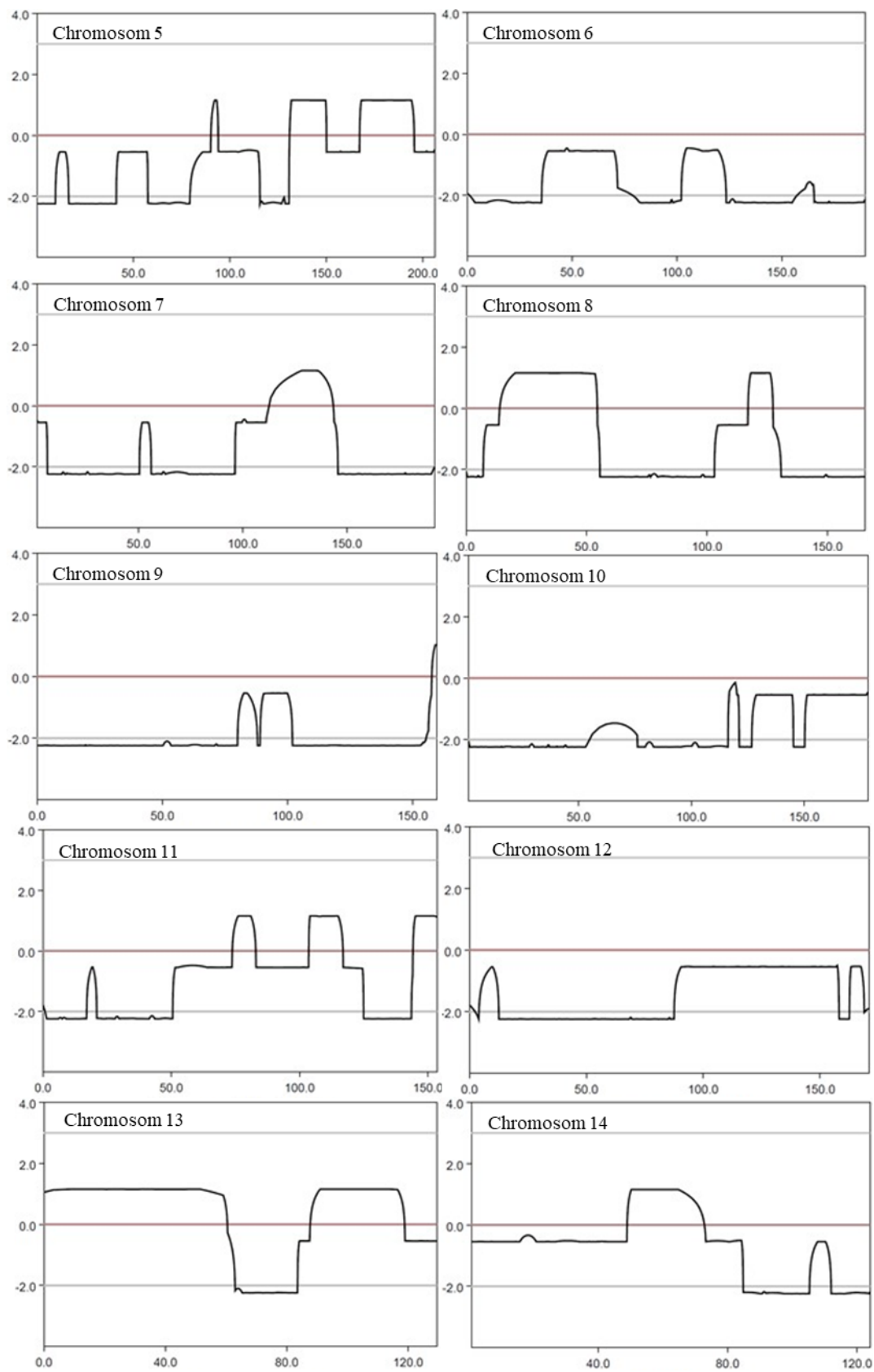


Abbildung 16b: LOD-Scores (logarithm of the odds) von Chromosom 5 – 14 (Gruppe „F“); x-Achse = Markerposition (cM), y-Achse = LOD-Score)



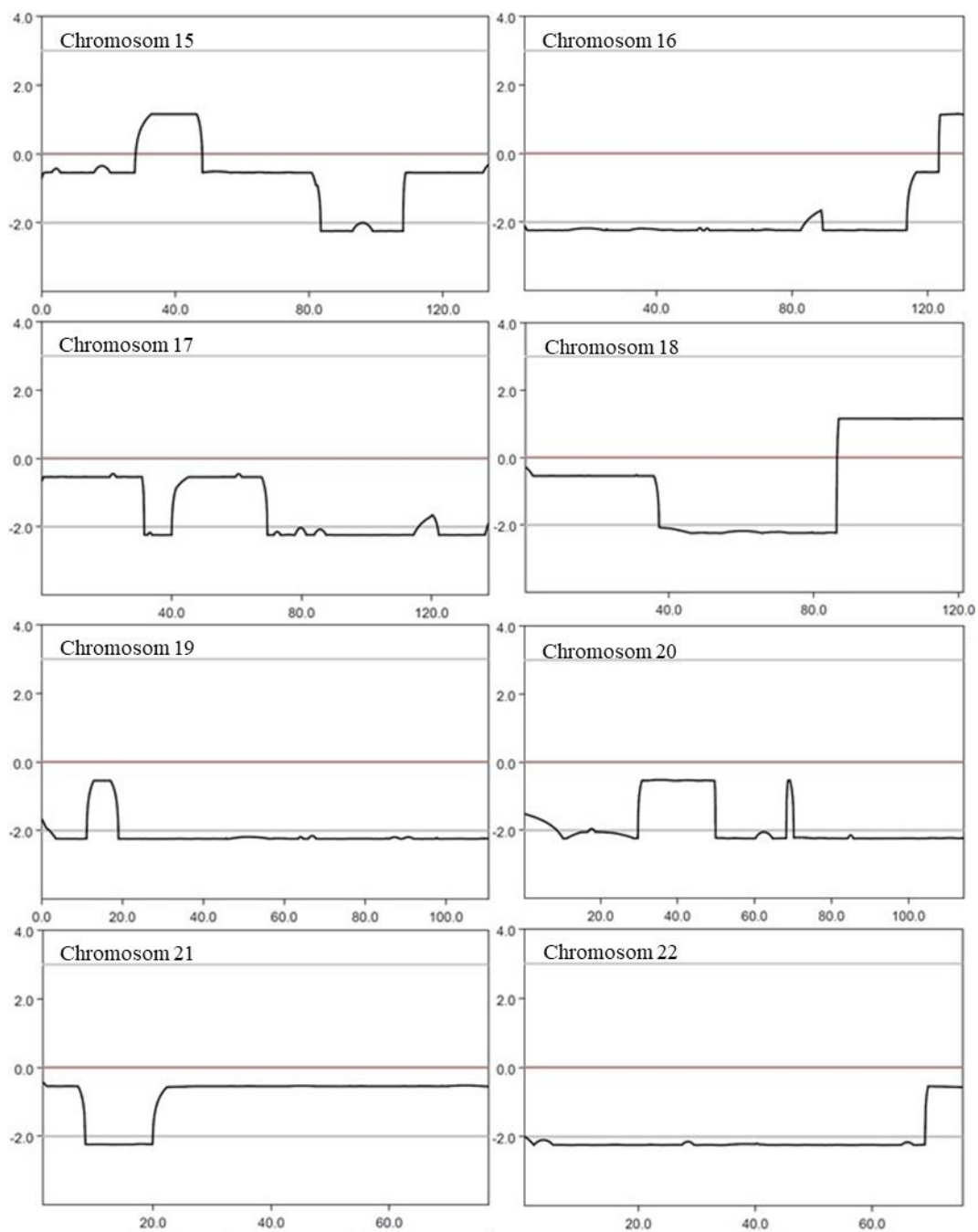


Abbildung 16c: LOD-Scores (logarithm of the odds) von Chromosom 15 – 22 (Gruppe „F“); x-Achse = Markerposition (cM), y-Achse = LOD-Score)

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Ergebnisse des Fragebogens

Die Patienten, die an der Untersuchung teilnahmen und aus eigenem Antrieb in die Ambulanz zur Blutabnahme und zum Ausfüllen des Fragebogens kamen, waren dementsprechend offen in Bezug auf ihre Erkrankung. Bewusst falsche Antworten bei Beantwortung des Fragebogens können daher, trotz fehlender Anonymität, tendenziell ausgeschlossen werden. Die vorliegende Arbeit ist primär experimentell. Der Fokus lag auf der molekulargenetischen Untersuchung der gesammelten DNA-Proben (mit besonderem Augenmerk auf  $\gamma$ -Sekretase Mutationen). Der verhältnismäßig große Aufwand, die Kosten des Sequenzierungsverfahrens sowie die Motivation der Patienten zu den Untersuchungen vorstellig zu werden, sind Faktoren, die den für diese Arbeit verfügbaren Patientenpool eingeschränkt haben. Auch wenn die Ergebnisse des Fragebogens, unter anderem bedingt durch die geringere Patientenzahl, zum Großteil sich als nicht signifikant erweisen, lässt sich dennoch eine statistische Tendenz feststellen.

Anhand des Fragebogens sollte ermittelt werden, an welchen Körperregionen sich das Krankheitsbild der Acne inversa am häufigsten manifestiert. In der Literatur wird die Verteilung der Krankheitsmanifestation nach Körperregionen mit 90 % in der Leistenregion, 69 % im Bereich der Achseln und 37 % in der perianalen und perinealen Region sowie 18 % submammär angegeben (Canoui-Poitaine et al., 2009; Poli et al., 2010).

Zu ähnlichen Ergebnissen kommt auch die vorliegende Studie. Bei Angabe der Lokalisation der **betroffenen Körperstellen** wurden im Fragebogen die typischen Bereiche wie Achseln (69,4 %), Leisten (63,9 %), Schritt (44,4%) und Perianalregion (52,8 %) genannt. 3 Patientinnen und 1 Patient gaben zudem den Brustbereich (submammär) als Läsionsstelle an. Eine höhere Reibung in der submammären Hautfalte im Vergleich zu männlichen Patienten könnte dafür ursächlich sein. Die Lokalisation der Läsionen und die strikte Beschränkung auf bestimmte Körperbereiche (vor allem Achsel- und Inguinalbereich) unterstützt die These, der Erkrankungsursprung sei in den Terminalhaarfollikeln zu finden und dass es sich bei Acne inversa um eine singuläre Erkrankung handeln müsse.

Weiteres Ziel der Untersuchung war es zu erfragen, ob bestimmte Erkrankungen mit Acne inversa assoziiert werden können. Ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Acne inversa und einer im Jugendalter vorliegenden

*Acne vulgaris* konnte nicht belegt werden. Die Mehrzahl der Patienten verneinten eine *Acne vulgaris* im Jugendalter, 27,8 % (n = 10) hingegen gaben eine *Acne vulgaris* im Jugendalter an. Dieser Wert ist, verglichen mit der bekannten Prävalenz der Erkrankung in der Bevölkerung von etwa 20 %, unwesentlich höher (Bhate und Williams, 2013).

Auch die für *Acne vulgaris* untypischen Lokalisationen der Entzündungen im Achsel-, Perianal- und Inguinalbereich, sowie das unterschiedliche Ansprechen auf Medikation sind weitere Zeichen für ein abweichendes Krankheitsbild. Histologische Unterschiede finden sich in der Literatur. Plewig beschreibt in „*Acne inversa, acne keloidalis nuchae, abszedierende Follikulitis der Kopfhaut*“ die verschiedenen histologischen Ursprünge beider Erkrankungen, bei *Acne vulgaris* die Talgdrüsen und bei *Acne inversa* die Terminalhaarfollikel (Plewig, 2003). Demnach sollte die Annahme gestützt werden, dass es sich bei *Acne inversa* um eine eigenständige Krankheit handelt.

Meist tritt *Acne inversa* während oder unmittelbar nach der Pubertät auf (Miller et al., 2011; Scheinfeld, 2015). Dieser Zusammenhang legt den Verdacht auf eine **hormonelle Komponente** als Krankheitsauslöser nahe. Lediglich 1 Patient gab in der Befragung an, unter einer Störung des Hormonhaushalts zu leiden. Bei vielen *Acne-inversa*-Patienten zeigten Hormontests keine Auffälligkeiten (Bergler-Czop et al., 2015). Dennoch wird sie mit erhöhten Androgen-Werten in Verbindung gebracht (Kraft und Searles, 2007). In einer Studie erwies sich etwa eine Anti-Androgen-Behandlung bei Patientinnen mit *Acne inversa* (n = 64) als therapeutisch effektiver, verglichen mit einer Antibiotikatherapie (Minderung der Symptome: 55 % gegenüber 26 %) (Kraft und Searles, 2007). Scheinfeld berichtete 2013, dass Finasteride und Dutasteride bei männlichen *Acne-inversa*-Patienten eine Besserung bewirkten.

Ob nun hormonelle Normabweichungen ursächlich für die Erkrankung sind, ist bis dato ungeklärt. In bestimmten Fällen mag der therapeutische Nutzen einer hormonellen Behandlung bei *Acne inversa* erfolgsversprechend sein.

*Acne inversa* wird in der Literatur mit familiärem **Morbus Alzheimer** in Verbindung gebracht. Bei Alzheimer Betroffenen wird die Bildung der Senilen Plaques unter anderem durch eine Mutation im Presenilin 1 oder 2 Gen der  $\gamma$ -Sekretase mit verursacht. Die  $\gamma$ -Sekretase schneidet das Amyloid-Precursor-Protein und sorgt damit für die Bildung von  $\beta$ -Amyloid. Es ist dabei bislang unklar, ob *PSEN*-Mutationen durch den Funktionsverlust von Presenilin oder

durch eine erhöhte  $\beta$ -Amyloid Produktion familiäres Alzheimer verursachen (Shen und Kelleher, 2007; Hardy und Selkoe, 2002).

Presenilin 1-Mutationen wurden auch bei familiären Acne-inversa-Fällen dokumentiert (Wang et al., 2010).

Ein Zusammenhang zwischen den beiden Erkrankungen sollte somit zumindest erwogen werden. Bei der Befragung des Patientenkollektivs konnte jedoch keine auffällige Häufung von Alzheimer Erkrankungen aufgezeigt werden. Es ist zu bedenken, dass bei der Frage nach Vorerkrankungen (bei den Patienten selbst und in der Verwandtschaft) nicht zwangsläufig verlässliche Datensätze entstehen, da familiäre Alzheimer-Erkrankung ohne vorherige gesicherte Diagnose mit einer Demenz verwechselt werden kann und kaum ein Patient einen vollständigen anamnestischen Überblick über seinen Familienstammbaum hat. Wang et al. konnten 2010 von keinem einzigen Alzheimer-Patienten im Zusammenhang mit Acne inversa berichten und das, obwohl Acne inversa mit einer vergleichsweise hohen Prävalenz auftritt (Wang et al., 2010). Eine aktuelle Studie aus dem Jahr 2016 an Acne-inversa-Betroffenen konnte kein erhöhtes Risiko für Alzheimer-Erkrankungen feststellen (Theut Riis et al., 2016).

Die oben beschriebene genetische Nähe beider Erkrankungen wird dadurch relativiert, dass die bisher gefundenen  $\gamma$ -Sekretase-Mutationen bei Alzheimer fast ausschließlich Missense-Mutationen waren, wohingegen bei Acne inversa bisher zum Großteil Nonsense- und Spleißstellen-Mutationen vorlagen (Pink et al., 2013; Kelleher und Shen, 2010).

Obwohl eine eindeutige Verbindung zwischen Acne inversa und Alzheimer nicht gezogen werden kann, unterstreicht die Auswirkung der Mutation der  $\gamma$ -Sekretase, insbesondere im Hinblick auf die Ansammlung von  $\beta$ -Amyloid, zumindest ihre mögliche Schlüsselrolle im Pathomechanismus. Denn  $\beta$ -Amyloid aktiviert ein Inflammasom in den Gliazellen und fördert somit die Sekretion von Interleukin- $1\beta$  (Halle et al., 2008). In einer Studie konnten deutlich erhöhte Zytokinwerte IL- $1\beta$  und TNF- $\alpha$  bei Acne-inversa-Betroffenen nachgewiesen werden (van der Zee et al., 2011). Wenn man diesen Erkenntnissen folgt, liegt die Vermutung nahe, dass Acne inversa eine durch Autoinflammation verursachte Erkrankung ist.

In der Literatur werden Acne-inversa-Patienten mit *Plattenepithelkarzinomen* im Perianal- und Inguinalbereich beschrieben. Beim befragten Patientenkollektiv berichtete kein Patient von einer Krebsdiagnose.

Die chronische Entzündung, die der Symptomatik der Erkrankung zu Grunde liegt, scheint die Entstehung von Hauttumoren zu begünstigen. Es ist schwer festzustellen, ob diese Plattenepithelkarzinome, wie bei einem Marjolin-Ulkus oder de novo, aufgrund anderer pathogenetischer Faktoren entstehen. Hervorzuheben ist, dass bisher ausschließlich von Plattenepithelkarzinomen im Bereich der Intimregion, jedoch nicht in den bei Acne inversa so häufig befallenen Achselbereichen berichtet wurde (Pena et al., 2015; Verdelli et al., 2016).

Ein Zusammenspiel aus chronischer Entzündung und einer Infektion mit humanen Papillomviren könnte dabei eine Rolle spielen. Insbesondere bei Acne inversa mit dokumentierter  $\gamma$ -Sekretase Mutation wurde von Plattenepithelkarzinomen berichtet (Wang et al., 2010; Nomura et al., 2014). Ein vermeintlicher Zusammenhang könnte sich durch den Einfluss der  $\gamma$ -Sekretase auf den Notch-Signalweg erklären lassen. South et al. konnten in einer Publikation aus dem Jahr 2014 eine Verbindung zwischen NOTCH1-Mutationen und der Entstehung von Plattenepithelkarzinomen der Haut aufzeigen (South et al., 2014). Vereinzelte Fallberichte weisen darauf hin, dass auch die Medikation mit TNF- $\alpha$ -Inhibitoren (Adalimumab, Infliximab) Plattenepithelkarzinome auslösen könnte (Scheinfeld, 2014; Giese et al., 2017).

Im Rahmen der Untersuchung wurde die Auswirkung der Erkrankung auf die Psyche der Patienten erfragt. Die Auswertung des Fragebogens hat ergeben, dass die **psychische Belastung** bei Acne-inversa-Patienten überdurchschnittlich hoch ist. 30,6 % (n = 11) der Patienten gaben an, dass die Folgeerscheinungen der Acne inversa eine psychische Belastung für sie darstelle. 69,4 % (n = 25) litten unter Bewegungseinschränkungen und Schmerzen durch das entzündete oder vernarbende Gewebe. Diese Ergebnisse decken sich auch mit einer Studie, die eine starke Verbindung zwischen der Verringerung des DLQI Scores (Dermatology Life Quality Index) und Acne inversa aufzeigen (von der Werth und Jemec, 2001). Mit einer Verminderung der Lebensqualität kann zumindest teilweise auch der hohe Anteil an Rauchern und Übergewichtigen im Sinne einer Stresskompensation relativiert werden.

Bei der Untersuchung wurde außerdem ein möglicher Zusammenhang mit Übergewicht und Rauchen geprüft, sowohl in Bezug auf die Ursache als auch auf den Ausprägungsgrad der Acne inversa. Eine retrospektiv durchgeführte Untersuchung besagt, dass von 100 Acne-inversa-Patienten fast die Hälfte übergewichtig waren (Cesko et al., 2009). In der vorliegenden Studie waren 82,1 % (n = 23) der Patienten der Gruppen „G“ und „M“ über dem Normalgewicht (BMI > 25 weiblich und > 26 männlich) und 46,4 % (n = 13) adipös oder

stark adipös ( $\text{BMI} > 31$ ). Eine Verbindung zwischen Übergewicht und Acne inversa ist daher wahrscheinlich. Auffällig war der Gewichtsunterschied der Gruppen „G“ und „M“ verglichen zur Gruppe „F“. Hier waren 62,5 % ( $n = 5$ ) im Bereich des Normalgewichts, zwei weitere Patienten untergewichtig und der durchschnittliche BMI von 22,1 signifikant geringer als der durchschnittliche BMI der Gruppen „G“ und „M“ von 30,5 ( $t(23) = 4,62$ ;  $p = 0,0001$ ).

Eine Korrelation zwischen Übergewicht und der Schwere der Erkrankung konnte dagegen bei den klinisch untersuchten Patienten ( $n = 17$ ) keine signifikanten Unterschiede zeigen (Vergleich Hurley Grad 1 und 2 mit Hurley Grad 3 ( $t(13) = -0,42$ ,  $p = 0,677$ )). In einer Studie mit 251 Patienten wurde über eine Variante des Sartorius Scores die Schwere der Erkrankung gemessen und bei 110 Patienten eine geringe, aber zumindest nachweisliche Verbindung zwischen der Schwere der Erkrankung und Übergewicht aufgezeigt (Sartorius et al., 2009).

Bei einer Punktprävalenz von fast 20 % bei 249 Patienten stellt sich die Frage, ob ein generelles Screening von Übergewichtigen auf Acne inversa sinnvoll sein könnte. 35 % der so untersuchten Acne-inversa-Patienten berichteten über einen Rückgang der Symptome nach Gewichtsreduktion (Kromann et al., 2014).

Dass Übergewicht eine Rolle bei der Krankheitsentstehung spielt, gilt als nahezu gesichert. Eine Förderung der Symptome scheint plausibel, da mit der schlechten Konstitution - bis hin zum metabolischen Syndrom - die Anfälligkeit für Inflammationen steigt, unter anderem durch eine erhöhte Sezernierung von  $\text{TNF-}\alpha$  und Interleukin-6 in den Adipozyten (Nishimura et al., 2009). Weiterhin könnten große Hautfalten über mechanische Reizung und Bakterienbesiedlung den Entzündungsprozess begünstigen. Wie groß der Einfluss mechanischer Friktion auf die Entstehung der typischen Läsionen ist, lässt sich nicht gesichert sagen. Ein Fall von Boer und Mihajlovic beschreibt eine übergewichtige Acne-inversa-Patientin mit Läsionen auf exakter Höhe des rötlichen Hautstreifens, der durch den unteren Rand ihres BHs verursacht wurde. Der Zusammenhang zwischen dem proinflammatorischen Zustand der Patientin und dem vermeintlichen Einfluss mechanischer Reibung wird hier gut illustriert (Boer und Mihajlovic, 2016). Im Hinblick auf einen Zusammenhang mit dem metabolischen Syndrom ist anzumerken, dass neben dem Übergewicht die Insulinresistenz ein mit der Krankheit assoziierter Faktor ist.  $\text{TNF-}\alpha$  und  $\text{IKK}\beta$  sind bei Acne-inversa-Patienten erhöht und fördern durch Phosphorylierung die Hemmung des Insulin-Rezeptor-Substrat-1 (IRS-1) (Boura-Halfon und Zick, 200; Melnik und Plewig, 2013). Des Weiteren scheint  $\text{IL-1}\beta$ , dass bei Acne inversa ebenfalls vermehrt sezerniert wird, die  $\text{p38 MAPK}$ -vermittelte (mitogen-aktivierte-proteinkinase) Insulinresistenz zu fördern (Buerger et al., 2012; Melnik

und Plewig, 2013). Der hohe Anteil an Betroffenen mit Übergewicht stützt die Annahme, dass es sich hier um einen wichtigen Triggerfaktor handelt.

Auffällig ist, neben dem Übergewicht, der enorm hohe Anteil an **Rauchern**. Der Anteil der Patienten der Gruppen „G“ und „M“, die angaben, regelmäßig Zigaretten zu rauchen, lag in der vorliegenden Studie bei 78,6 % (n = 22). Der Durchschnitt rauchte 17 Zigaretten am Tag. Ein derart hoher Anteil an Rauchern, wie er auch in anderen Veröffentlichungen bestätigt wurde (König et al., 1999; Revuz et al., 2008; Cesko et al., 2009), verdeutlicht, dass es sich beim Nikotinkonsum um einen wichtigen Risikofaktor für Acne inversa handeln muss. Aus der Familie (Gruppe „F“) gaben alle Mitglieder an, nicht zu rauchen oder nie geraucht zu haben (n = 8). Somit scheint der Nikotinkonsum nicht bei jeder Form der Acne inversa relevant zu sein.

Zur Korrelation der Schwere der Erkrankung und einem erhöhten Nikotinkonsum gibt es bisher widersprüchliche Ergebnisse. In einer Studie mit 115 Patienten wurde ein etwas höherer Anteil an Rauchern mit einer schwereren klinischen Ausprägung der Krankheit als bei Nichtrauchern nachgewiesen (p = 0,03) (Sartorius et al., 2009).

In einer anderen, groß angelegten Studie mit 302 Patienten konnte ein derartiger Zusammenhang jedoch nicht bestätigt werden (Canoui-Poitaine et al., 2009).

Man kann anführen, dass sich der Raucheranteil zum Teil auch aufgrund der hohen psychischen Belastung erklären lässt und somit das Rauchen auch als kompensatorische Reaktion auf die erhöhte Belastung angesehen werden kann, die mit der Erkrankung einhergeht. 77,3 % (n = 17) der Patienten der vorliegenden Studie rauchten jedoch bereits vor dem Erstauftreten der Erkrankung. In einer weiteren Studie, die den Zigarettenkonsum bei Acne-inversa-Patienten beleuchtete, gaben alle Patienten an, vor Erstausbruch der Erkrankung geraucht zu haben (Breitkopf et al., 1995). Diese Erkenntnis stärkt die Theorie des Nikotinkonsums als ätiologische Komponente der Erkrankung. Allerdings ist bisher nicht bekannt, ob der Verzicht des Zigarettenkonsums zu einer Verbesserung der Krankheitssymptome führt. Allerdings ist eine spontane Heilung bei Acne inversa so gut wie unmöglich.

Bei fortgeschrittenen Läsionen wird in der Literatur die radikale chirurgische Exzision der betroffenen Hautareale empfohlen (Humphries et al., 2016; Kirschke et al., 2015). Das Ergebnis nach chirurgischem Eingriff (Exzision der Läsionen) wurde von den meisten Patienten der vorliegenden Studie positiv bewertet. 87,5 % (n = 21) Patienten gaben eine

Verbesserung nach operativem Eingriff an. Bei dem Vergleich der primären mit der sekundären Wundheilung zeigte sich eine Tendenz für einen besseren Heilungsverlauf bei sekundärer Wundheilung. Keiner der rein medikamentös behandelten Patienten ( $n = 17$ ) berichtete von einer vollständigen Ausheilung der Läsionen. Der chirurgische Eingriff scheint eine effektive Behandlungsmethode zu sein.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung

Im Jahre 1985 wurde der Verdacht auf eine genetische Komponente bei Acne inversa geäußert. Bei 34,3 % der Patienten gab es Acne-inversa-Fälle in der Verwandtschaft (Fitzsimmons und Guilbert, 1985). In der vorliegend untersuchten Gruppe berichteten 25 % ( $n = 7$ ) der Patienten (Gruppe „G“ und „M“) von Acne-inversa-Fällen in der direkten Verwandtschaft. Die Dunkelziffer dürfte höher sein, da die Krankheit möglicherweise aufgrund der Stigmatisierung oftmals verschwiegen wird. Gerade bei der älteren Generation dürfte die Bekanntheit der Erkrankung und somit deren Akzeptanz und Bereitschaft sich anderen mitzuteilen, geringer sein. Jüngere Familienmitglieder zeigen unter Umständen noch keine Symptome, da die Krankheit sich meist erst mit Beginn der Pubertät oder in der folgenden Dekade zeigt.

Im Rahmen dieser Studie sollte ermittelt werden, ob bei Patienten mit einer Acne-inversa-Erkrankung  ***$\gamma$ -Sekretase-Mutationen*** gefunden werden können, unabhängig von bekannter familiärer Häufung. Ausgangspunkt für die Untersuchung der Gene der  $\gamma$ -Sekretase waren die Ergebnisse einer Untersuchung von Wang et al.. In einem Patientenkollektiv aus sechs chinesischen Familien mit bekannter familiärer Acne inversa wurden erstmals heterozygote Mutationen (*PSENEN*, *PSEN1*, *NCSTN*) in den Untereinheiten der  $\gamma$ -Sekretase gefunden (Wang et al., 2010). Diese und andere Mutationen, die sich ebenfalls alle auf die Gene der  $\gamma$ -Sekretase bezogen, wurden in Studien bei weiteren Patienten mit familiärer Acne inversa bestätigt (Wang et al., 2010; Liu et al., 2011; Pink et al., 2011; Miskinyte et al., 2012; Jiao et al., 2013; Zhang et al., 2013).

Eine oftmals schwere klinische Ausprägung der Acne inversa findet sich auch bei Patienten mit dem **PASH-Syndrom**, welches die Symptome der Acne inversa, Pyoderma gangraenosum und Akne in einem Syndrom zusammenfasst (Braun-Falco et al., 2012). Das PASH-Syndrom ähnelt klinisch dem PAPA-Syndrom, bei dem bereits im Zuge molekulargenetischer Untersuchungen eine Mutation des *PSTPIP1* Gens bekannt wurde



(Wise et al., 2002). Untersuchungen von PASH-Patienten auf  $\gamma$ -Sekretase-Mutationen könnten einen interessanten Ansatzpunkt für weitere Studien bilden. Bei einem PASH-Patienten zeigte sich eine *PSTPIP1* Genmutation (Calderon-Castrat et al., 2016). Bei einem weiteren Patienten mit PASH-Syndrom wurde eine Mutation auf dem  $\gamma$ -Sekretase relevanten *NCSTN* Gen nachgewiesen (Duchatelet et al., 2015).

Die bisher unter der Diagnose Acne inversa beschriebenen Mutationen sollten daher hinsichtlich der Diagnostik kritisch betrachtet werden, da zum Teil Fälle mit sehr schwerer Acne inversa Ausprägung beschrieben wurden und es sich hierbei auch um Fälle des relativ neu entdeckten PASH/PAPASH-Syndrom handeln könnte. Aufgrund der Nähe der Erkrankungen bezogen auf die Symptomatik, steigt die Bedeutung einer exakten Diagnostik.

In der Literatur gibt es diverse Hinweise,  $\gamma$ -Sekretase-Mutationen seien verantwortlich für die Ausprägung familiärer Acne inversa (Yang et al., 2015; Xiao et al., 2016). Dass diese Mutationen jedoch sowohl bei vereinzelt auftretender als auch bei familiärer Acne inversa nicht immer zu finden sind, zeigten die Untersuchungen von Ingram et al., 2013.

In der vorliegenden Studie konnte bei einem Patienten eine Mutation in Exon 1 des *NCSTN* Gens ((NM\_015331): c.38delG, p.(G13Efs\*15)) beschrieben werden, alle übrigen 34 Patienten zeigten keine genetischen Varianzen in den codierenden Regionen der Gene *APH1A* (Exon 1-7), *APH1B* (Exon 1-6), *PSENEN* (Exon 1-4), *PSEN1* (Exon 3-12), *PSEN2* (Exon 4-13) und *NCSTN* (Exon 1-17).

Die Erkenntnisse um die Funktion und die vermeintlichen Auswirkungen von Mutationen der  $\gamma$ -Sekretase, die nachstehend erläutert werden, lassen vermuten, dass entweder Defekte auf anderen Genen oder sonstige prädisponierende Faktoren Einfluss auf den Pathomechanismus nehmen könnten.

Der intramembranöse Proteasekomplex ( $\gamma$ -Sekretase) hat direkten Einfluss auf die Aktivität des Proteins Notch (Wolfe, 2001). Eine Vielzahl der dokumentierten Mutationen hatte einen Funktionsverlust der Untereinheiten zur Folge und somit eine verminderte Aktivität von Notch (Melnik und Plewig, 2013).

Tierexperimente bei Mäusen ergaben, dass diese bei verminderter  $\gamma$ -Sekretase und Notch Aktivität klinische Merkmale zeigten, wie sie auch bei Acne-inversa-Patienten zu finden sind (Melnik und Plewig, 2013a).

Ein Großteil der bisher bekannten Mutationen wurde auf dem *NCSTN* Gen gefunden (Zhang und Sisodia, 2015). Einen möglichen Zusammenhang zwischen verminderter  $\gamma$ -Sekretase-Aktivität und den typischen Acne-inversa-Symptomen zeigte eine Untersuchung von Xiao et al., 2016. Hier wurde über (si)RNA in HaCat-Zellen das *NCSTN* Gen ausgeschaltet und damit die  $\gamma$ -Sekretase Funktion beeinflusst. Moleküle des Notch-Signalwegs waren vermindert und die Synthese der Signaltransduktionsproteine Phosphoinositid-3-Kinase und AKT war nachweislich erhöht. Die kompromittierten Keratinozyten (HaCat-Zellen) zeigten eine deutlich gesteigerte Zellproliferation wie sie auch bei Acne inversa vorkommt (Xiao et al., 2016).

Yang et al., 2015 lieferten weitere Hinweise für den Zusammenhang der Krankheit mit dem *NCSTN* Gen. Die Auswirkung einer Nonsense-Mutation (c.1258C>T (p.Q420X)) im *NCSTN* Gen wurde bei einer chinesischen Familie mit Acne inversa untersucht. Über qPCR und Western Blotting konnte man deutlich niedrigere Protein- und mRNA-Werte von Nicastrin im Blut der Untersuchten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe feststellen. Die Forscher schlossen daraus, dass die vorliegende Haploinsuffizienz des *NCSTN* Gens ursächlich für die Acne inversa spezifische Merkmalsausprägung war (Yang et al., 2015).

Eine weitere Veröffentlichung verdeutlicht wiederum, dass nicht jede heterozygote Mutation im *NCSTN* Gen zwangsläufig zur Merkmalsausprägung führt. Die Autoren berichteten von einem 62 jährigen Japaner, der typische Symptome einer schweren Form der Acne inversa und eine zu dieser Zeit neuartige Nonsense-Mutation im *NCSTN* Gen zeigte (p.Gln568Term (p.Q568X), c.1702C>T). Dabei wurden weitere Familienmitglieder untersucht. Sein ebenfalls von Acne inversa betroffener Bruder zeigte dieselbe heterozygote Nonsense-Mutation. Auch die Proben der Schwester waren positiv für den Gendefekt. Hervorzuheben ist hierbei, dass die Schwester keinerlei Acne inversa typische Symptome zeigte. Auch in der SNP Datenbank (dbSNP139) war die Mutation nicht gelistet. Alle übrigen Gene der  $\gamma$ -Sekretase wurden bei den Familienmitgliedern sequenziert und damit mögliche weitere ursächliche Gendefekte im Proteinkomplex ausgeschlossen (Nomura et al., 2014).

Daraus lässt sich ableiten, dass vermeintlich pathogene  $\gamma$ -Sekretase-Mutationen nicht zwangsläufig den Acne inversa typischen Phänotyp auslösen. Der mögliche Erklärungsansatz des Pathomechanismus über eine eingeschränkte  $\gamma$ -Sekretase Funktion und damit eine Verminderung des Notch-Signalwegs muss kritisch betrachtet werden. Wissenschaftliche Erkenntnisse zur Entstehung von familiärem Morbus Alzheimer machen dies deutlich. Beispielsweise wurde von *PSEN1*-Mutationen berichtet, die einen vollständigen Ausfall von

Notch zur Folge hatten und damit der Theorie nach auch Acne-inversa-Symptome hätten auslösen müssen. Dies war jedoch nicht der Fall (Song et al., 1999; Kelleher und Shen, 2010). Letztere folgerten, dass bei *PSEN1*-Mutationen mit Funktionsverlust wahrscheinlich erst bestimmte weitere Gen Modifikationen den Acne inversa typischen Phänotyp auslösen würden (Kelleher und Shen, 2010).

Die durch Mutationen ausgelöste Haploinsuffizienz ist nicht bei allen bisher bekannten *NCSTN*-Mutationen zu beobachten. Zhang und Sisodia untersuchten Nicastrin Varianten, die durch *NCSTN*-Mutationen verursacht wurden. Diese Nicastrin Varianten zeigten keine Beeinflussung des Notch Signalwegs. Sie schlossen daraus, dass die von den entsprechenden Wildtyp-Allelen kodierten Proteinkomponenten ausreichend seien, um die Funktion des Notch-Signalwegs aufrecht zu erhalten (Zhang und Sisodia, 2015).

Das hohe Interesse der Forschung und die Zahl an Berichten über die Zusammenhänge der Acne inversa mit  $\gamma$ -Sekretase-Mutationen impliziert, dass Funktionsausfälle der  $\gamma$ -Sekretase unter Umständen singuläre Ursache für die Erkrankung seien. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung können diese Annahme allerdings nicht stützen. Weder bei Patienten, die von familiären Acne-inversa-Fällen berichteten, noch bei vermeintlich isoliert auftretenden Fällen konnte, bis auf einen Patienten (*NCSTN*(NM\_015331): c.38delG, p.(G13Efs\*15)), eine Mutation in einem der für die  $\gamma$ -Sekretase codierenden Genen *NCSTN*, *PSENEN*, *PSEN1/2* und *APH1A/B* bestätigt werden. Die Datenbank ExAC gibt für das Gen *NCSTN* einen pLI score (probability of loss-of-function intolerance) von 1,00 an. Das Gen *NCSTN* hat somit statistisch eine Intoleranz gegenüber Loss-of-Function-Varianten. Loss-of-function Varianten im Gen *NCSTN* sind als Ursache einer autosomal-dominant vererbten Acne inversa beschrieben (OMIM: #142690). Unter diesem Aspekt wäre die Untersuchung weiterer Familienmitglieder des betroffenen Patienten vielversprechend gewesen. Allerdings lehnte der Patient weitere molekulargenetische Untersuchungen ab.

Als weiterführende Untersuchung wurde bei Gruppe „F“ eine Kopplungsanalyse am Institut für Humangenetik am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München durchgeführt. Der höchste gemessene LOD-Score lag bei ca. 1,5. Dieser Wert wurde an mehreren Regionen über die Chromosomen verteilt gemessen. Erst ein LOD-Score von nahe oder bei 3,0 würde auf einen möglichen krankheitsverursachenden Genlocus hindeuten. Die Wahrscheinlichkeit für eine monogene Ätiologie bei Acne-inversa-Erkrankungen ist daher sehr gering. Die Untersuchung unterstützt die Annahme, dass es sich um einen multifaktoriellen Ursachenkomplex handelt. Auch bei einer multifaktoriell bedingten

Erkrankung können in vermuteten Risikogenen niedrig-penetrante Varianten auftreten. Eine genomweite Assoziationsstudie sollte daher in Betracht gezogen werden, wobei jedoch eine Patientenanzahl von  $n > 1000$  nötig wäre, um krankheitsassoziierte Gene zu identifizieren. Auch könnte eine weitere Kopplungsanalyse mit niedriger Penetranz oder eine Analyse mit lediglich den 8 betroffenen Familienmitgliedern vorgenommen werden. Eine Exomuntersuchung scheint unter diesen Umständen nicht sinnvoll zu sein.

In einer britischen Studie wurden 48 Patienten auf Mutationen im *NCSTN*, *PSENEN* und *PSENI* Gen untersucht. Hierbei gaben 19 Patienten weitere familiäre Acne-inversa-Fälle an. Von allen untersuchten Patienten wurde aber lediglich bei 2 Patienten eine pathologisch relevante *NCSTN* Mutation entdeckt. Bemerkenswerterweise konnte keiner der beiden Patienten über das Auftreten von Acne inversa in der Familie berichten. Nennenswert ist auch, dass beide Raucher und zudem stark adipös waren (BMI 37 und 38), was die Theorie des Einflusses bestimmter äußerer Faktoren auf Acne inversa stärkt (Pink et al., 2012).

Die für Acne inversa typische klinische Diagnose, die hauptsächlich durch wiederkehrende Entzündungen in den intertriginösen Hautbereichen gekennzeichnet ist, zeigt bei einem Großteil der Patienten eine gewisse Homogenität. Dennoch gibt es zum Teil auch bei familiären Acne-inversa-Fällen mit bekannter pathogener  $\gamma$ -Sekretase Mutation deutliche Variationen bei der Ausprägung des Phänotyps. Beispielsweise wiesen die von Wang et al., 2010 untersuchten Familien sehr schwere Formen der Acne inversa mit Befall eher untypischer Regionen wie dem Bauch oder Rücken auf (Wang et al., 2010).

In der Literatur zeigten Patienten, bei denen sich  $\gamma$ -Sekretase-Mutationen bestätigten, oftmals eine sehr schwere Ausprägung der Erkrankung, einem Hurley Grad 3 entsprechend (Wang et al., 2010). Des Weiteren sind sehr schwere und auch behandlungsresistente Fälle im Zusammenhang mit defekter  $\gamma$ -Sekretase bekannt (Pink et al., 2012). Dies wiederum legt die Vermutung nahe, dass es sich bei Acne inversa mit pathologisch relevanten Mutationen in der  $\gamma$ -Sekretase um Sonderformen der Erkrankung handeln könnte.

Eine Kombination aus Mutationen auf bestimmten Genen, epigenetischer Veränderungen und das Zusammenspiel von prädisponierenden und äußeren Faktoren scheint daher entscheidend für die Ausprägung des Phänotyps zu sein.

Um die passende Therapie und das individuelle Risiko für den jeweiligen Patienten zu bestimmen und zu optimieren, ist es daher unerlässlich, genaue Einteilungen bezüglich des Phänotyps und der genetischen Faktoren vorzunehmen.

## 6 Zusammenfassung

Acne inversa (Synonyme: Hidradenitis suppurativa, dissecting terminal hair folliculitis) manifestiert sich vorwiegend in den intertriginösen Hautarealen. Aufgrund des chronisch-entzündlichen Charakters kommt es häufig zu Narben in den Prädilektionsstellen. In der Literatur werden diverse krankheitsauslösende und krankheitsverstärkende Faktoren diskutiert. Neben Übergewicht und Nikotinkonsum wird eine genetische Komponente als Ursache für den Krankheitsursprung in Betracht gezogen.

Einige wenige bislang veröffentlichte Arbeiten weisen im Hinblick auf die genetische Komponente auf einen Zusammenhang mit Mutationen der  $\gamma$ -Sekretase Gene hin. Hervorzuheben ist, dass die in diesen Studien positiv auf Mutationen getesteten Patienten oftmals einen stark ausgeprägten Acne-inversa-Phänotyp zeigten, wobei auch untypische Hautbereiche betroffen waren, wie Bauch und Rücken.

In der vorliegenden Studie sollten Patienten mit der klinischen Diagnose Acne inversa, unabhängig von der Familienanamnese, auf  $\gamma$ -Sekretase-Mutationen getestet und unter Zuhilfenahme eines Fragebogens mögliche relevante Risikofaktoren ermittelt werden.

Die theoretischen Pathogenese-Erklärungsansätze, welche die klinische Manifestation der Krankheit über den Zusammenhang einer eingeschränkten  $\gamma$ -Sekretase Funktion und einer Hemmung des Notch-Signalwegs erklären, erscheinen zunächst schlüssig. Eine verminderte  $\gamma$ -Sekretase Funktion löste in Tierexperimenten Acne inversa typische Symptome aus.

Die Gene *APH1A* und *B*, *PSENEN*, *PSEN1* und *2* und *NCSTN* der einer Patientengruppe aus dem Raum München (Gruppe „M“; n = 23) wurden im Zuge eines Sequenzierungsverfahrens molekulargenetisch untersucht.

In der vorliegenden Arbeit konnten, bis auf eine Ausnahme (*NCSTN*(NM\_015331): c.38delG, p.(G13Efs\*15)), keine Mutationen in den für die  $\gamma$ -Sekretase codierenden Genen bestätigt werden.

Die Wahrscheinlichkeit für eine monogene Erkrankung scheint daher sehr gering zu sein. Auch eine extern durchgeführte Kopplungsanalyse einer Familie (n = 12) mit erkrankten Mitgliedern (n = 8) stützt diese Annahme.

Letztlich ist ein Zusammenspiel von äußeren und genetischen Faktoren wahrscheinlich, wobei eine Kombination aus physisch kompromittierter Konstitution und die Wirkung von Nikotin bei einem genetisch vorbelasteten Individuum die Krankheit auslösen kann. Auch die unterschiedliche therapeutische Effizienz von bestimmten Medikamenten spricht für Sonderformen der Erkrankung.

Bezogen auf weitere molekulargenetische Untersuchungen scheint es ebenfalls sinnvoll zu sein, dass der Fokus auf Gene (neben den Genen der  $\mu$ -Sekretase) gelegt wird, die Einfluss auf den Notch-Signalweg nehmen. Auch wenn der genetische Ursprung komplex ist, können pathogene Allele niedrig-penetrant sein. Um diese zu identifizieren sind große Assoziationsstudien nötig. Nur durch eine differenzierte klinische Einteilung der Phänotypen und weitreichende genetische Untersuchungen kann die vermutlich multifaktorielle Ursache der Erkrankung besser verstanden werden. Hieraus können sich individualisierte und effektive Behandlungsmethoden entwickeln.

## 7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Hurley-Score (Canoui-Poittrine et al., 2009).....	7
Abbildung 2: Sartorius-Score modifiziert von Revuz (Revuz, 2007, Canoui-Poittrine et al., 2009) .....	7
Abbildung 3: Der wohl prominenteste Patient, der unter "Smoker boils" litt; Karl Marx (Happle und König, 2008).....	10
Abbildung 4: Notch-Signalweg (in Anlehnung an Melnik und Plewig, 2013) .....	21
Abbildung 5: Übersicht - untersuchte Patienten und Gruppeneinteilung ( <sup>5</sup> Exomsequenzierung der Gruppen „G“ und „F“ ist geplant).....	27
Abbildung 6: Krankheitsbeginn (Vergleich der Gruppen „G“/„M“ mit Gruppe „F“) .....	41
Abbildung 7: Body Mass Index (BMI) Klassifikationen (Vergleich der Gruppen „G“/„M“ mit Gruppe „F“) .....	42
Abbildung 8: Body Mass Index (BMI) Verteilung (Vergleich der Gruppen „G“/„M“ mit Gruppe „F“) .....	42
Abbildung 9: Vergleich Body Mass Index (BMI) und Schwere der Erkrankung (Angabe in den Hurley Graden 1-3) .....	43
Abbildung 10: Subjektiv empfundene Ausprägung der Läsionen an den entsprechenden Körperstellen .....	44
Abbildung 11: Vergleich zwischen Krankheitsbeginn und Beginn des Nikotinkonsums.....	44
Abbildung 12: Vergleich der Zigarettenanzahl pro Tag und dem Schweregrad der Erkrankung (Hurley Grad 1-3) der Gruppe „M“ .....	45
Abbildung 13: Vergleich des subjektiv empfundenen Erfolgs nach medikamentöser Therapie und chirurgischem Eingriff.....	47
Abbildung 14: <i>NCSTN</i> Exon 1 - <i>NCSTN</i> (NM_015331): c.38delG, p.(G13Efs*15) (von Dr.Gertrud Eckstein, Helmholtz Zentrum München).....	48
Abbildung 15: Stammbaum der Familie "F" .....	49
Abbildung 16a: LOD-Scores (logarithm of the odds) von Chromosom 1 – 4 (Gruppe „F“); x-Achse = Markerposition (cM), y-Achse = LOD-Score) (modifizierte Grafik von Matias Wagner und Dr. Peter Lichtner) .....	49
Abbildung 16b: LOD-Scores (logarithm of the odds) von Chromosom 5 – 14 (Gruppe „F“); x-Achse = Markerposition (cM), y-Achse = LOD-Score) .....	50
Abbildung 16c: LOD-Scores (logarithm of the odds) von Chromosom 15 – 22 (Gruppe „F“); x-Achse = Markerposition (cM), y-Achse = LOD-Score) .....	51

## 8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Komorbiditäten bei Acne inversa in Anlehnung an Fimmel und Zouboulis, 2010	15
Tabelle 2: PCR-Ansatz mit MgCl <sub>2</sub> .....	31
Tabelle 3: PCR-Protokoll für <i>NCSTN</i> Ex1 und Ex17 Forward und Reverse .....	33
Tabelle 4: PCR-Ansatz mit BigDye Terminator v3.1.....	35
Tabelle 5: PCR-Protokoll mit BigDye Terminator v3.1 .....	35
Tabelle 6: Verwendete Forward- und Reverse Primer der Gene <i>APH1A/B</i> , <i>PSENEN</i> , <i>PSEN1/2</i> und <i>NCSTN</i> (von Dr. Gertrud Eckstein, Helmholtz-Zentrum München; PCR Primer ermittelt mit ExonPrimer Software; Analyse auf Mutationen mit Staden Package 2.0).....	38
Tabelle 7: Subjektiver Therapieerfolg (Anzahl Patienten), *Clindamycin 300mg/Rifampicin 300mg 1-0-1 .....	47



## 9 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AI	Acne inversa
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
Chr	Chromosom
d	Duplett
DNS	Desoxyribonucleinsäure
et al.	et alii (und andere)
Ex	Exon
g	Gramm
GDP	Guanosindiphosphat
GTP	Guanosintriphosphat
l	Liter
M	molar
mg	Milligramm
ml	Milliliter
n	Anzahl
nm	Nanometer
OP	Operation
PCR	Polymerasekettenreaktion
$\alpha$	alpha
$\beta$	beta
$\gamma$	gamma
$\mu$ l	Mikroliter

## 10 Literaturverzeichnis

- Alikhan A, Lynch PJ, Eisen DB: Hidradenitis suppurativa: a comprehensive review. *J Am Acad Dermatol* 60: 539-561, 2009
- Altmann S, Fansa H, Schneider W: Axillary hidradenitis suppurativa: a further option for surgical treatment. *J Cutan Med Surg* 8: 6-10, 2004
- Andre M, Aumaitre O: Aseptic abscesses syndrome. *Rev Med Interne* 32: 678-88, 2011
- Bechara FG, Hartschuh W: Acne inversa. *Hautarzt* 61: 39-46, 2010
- Bergler-Czop B, Hadasik K, Brzezinska-Wcislo L: Acne inversa: difficulties in diagnostics and therapy. *Postepy Dermatol Alergol* 32: 296-301, 2015
- Bhate K, Williams HC: Epidemiology of acne vulgaris. *Br J Dermatol* 168: 474-85, 2013
- Blok JL, van Hattem S, Jonkman MF, Horvath B: Systemic therapy with immunosuppressive agents and retinoids in hidradenitis suppurativa: a systematic review. *Br J Dermatol* 168: 243-252, 2013
- Boer J, Weltevreden EF: Hidradenitis suppurativa or acne inversa. A clinicopathological study of early lesions. *Br J Dermatol* 135: 721-725, 1996
- Boer J, Nazary M: Long-term results of acitretin therapy for hidradenitis suppurativa. Is acne inversa also a misnomer? *Br J Dermatol* 164: 170-175, 2011
- Boer J, Jemec GB: Mechanical stress and the development of pseudo-comedones and tunnels in hidradenitis suppurativa/acne inversa. *Exp Dermatol* 25: 396-397, 2016
- Boer J, Mihajlovic D: Boils at frictional locations in a patient with hidradenitis suppurativa. *Acta Dermatovenerol Croat* 24: 303-304, 2016
- Boura-Halfon S, Zick Y: Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296: 581-591, 2009
- Braun-Falco M, Kovnerystyy O, Lohse P, Ruzicka T: Pyoderma gangrenosum, acne and suppurative hidradenitis (PASH)-a new autoinflammatory syndrome distinct from PAPA syndrome. *J Am Acad Dermatol* 66: 409-415, 2012
- Breitkopf C, Bockhorst J, Lippold A: Pyoderma fistulans sinifica (Akne inversa) und Rauchgewohnheiten. *Z Hautkr* 70: 332-334, 1995
- Breuninger H, Wienert V: Acne inversa. *Dtsch Arztebl International* 98: 2889-2892, 2001
- Brunsting H: Hidradenitis and other variants of acne. *Arch Dermatol Syphilol* 65: 303-315, 1952
- Buerger C, Richter B, Woth K, Salgo R, Malisiewicz B, Diehl S, Hardt K, Boehncke S, Boehncke WH: Interleukin-1beta interferes with epidermal homeostasis through induction of insulin resistance: implications for psoriasis pathogenesis. *J Invest Dermatol* 132: 2206-2214, 2012
- Calderon-Castrat X, Bancalari-Diaz D, Roman-Curto C, Romo-Melgar A, Amoros-Cerdan D, Alcaraz-Mas LA, Fernandez-Lopez E, Canueto J: *PSTPIP1* Gene mutation in a pyoderma gangrenosum, acne and suppurative hidradenitis (PASH) Syndrome. *Br J Dermatol* 175: 194-198, 2016
- Canoui-Poitaine F, Revuz J, Wolkenstein P, Viallette C, Gabison G, Pouget F, Poli F, Faye O, Bastuji-Garin S: Clinical characteristics of a series of 302 french patients with hidradenitis suppurativa, with an analysis of factors associated with disease severity. *J Am Acad Dermatol* 61: 51-57, 2009
- Cesko E, Korber A, Dissemmond J: Smoking and obesity are associated factors in acne inversa: results of a retrospective investigation in 100 patients. *Eur J Dermatol* 19: 490-493, 2009
- Chen W, Plewig G: Should hidradenitis suppurativa/acne inversa best be renamed as "dissecting terminal hair folliculitis"? *Exp Dermatol* 26: 544-547, 2017
- Clemmensen OJ: Topical treatment of hidradenitis suppurativa with clindamycin. *Int J Dermatol* 22: 325-328, 1983
- Constantinou C, Widom K, Desantis J, Obmann M: Hidradenitis suppurativa complicated by squamous cell carcinoma. *Am Surg* 74: 1177-1181, 2008
- Cosmatos I, Matcho A, Weinsetin R, Montgomery M, Stang P: Analysis of patient claims data to determine the prevalence of hidradenitis suppurativa in the United States. *J Am Acad Dermatol* 68: 412-419, 2013

- Danby FW, Margesson LJ: Hidradenitis suppurativa. *Dermatol Clin* 28: 779-793, 2010
- Duchatelet S, Miskinyte S, Join-Lambert O, Ungeheuer MN, Frances C, Nassif A, Hovnanian A: First nicastrin mutation in PASH (pyoderma gangrenosum, acne and suppurative hidradenitis) syndrome. *Br J Dermatol* 173: 610-612, 2015
- Ellis LZ: Hidradenitis suppurativa: surgical and other management techniques. *Dermatol Surg* 38: 517-536, 2011
- Emelianov VU, Bechara FG, Gläser R, Langan EA, Taungjaruwina W, Schröder JM, Meyer KC, Paus R: Immunohistological pointers to a possible role for excessive cathelicidin (LL-37) expression by apocrine sweat glands in the pathogenesis of hidradenitis suppurativa/acne inversa. *Br J Dermatol* 166: 1023-1034, 2012
- Esser C, Rannug A, Stockinger B: The aryl hydrocarbon receptor in immunity. *Trends Immunol* 30: 447-454, 2009
- Fabbrocini G, Ruocco E, De Vita V, Monfrecola G: Squamous cell carcinoma arising in long-standing hidradenitis suppurativa: an overlooked facet of the immunocompromised district. *Clin Dermatol* 35: 225-227, 2017
- Fernández-Vozmediano JM, Armario-Hita JC: Infliximab for the treatment of hidradenitis suppurativa. *Dermatology* 215: 41-44, 2007
- Fimmel S, Zouboulis CC: Comorbidities of hidradenitis suppurativa (acne inversa). *Dermatoendocrinol* 2: 9-16, 2010
- Fitzsimmons JS, Guilbert PR, Fitzsimmons EM: Evidence of genetic factors in hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 113: 1-8, 1985
- Gemeinsamer Bundesausschuss. Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Arzneimittel-Richtlinie (AM-RL): Anlage XII - Beschlüsse über die Nutzenbewertung von Arzneimitteln mit neuen Wirkstoffen nach § 35a SGB V – Vedolizumab, 2015  
Webseite: [https://www.g-ba.de/downloads/39-261-2143/2015-01-08\\_AM-RL-XII\\_Vedolizumab\\_2014-07-15-D-122\\_BAnz.pdf](https://www.g-ba.de/downloads/39-261-2143/2015-01-08_AM-RL-XII_Vedolizumab_2014-07-15-D-122_BAnz.pdf) (07.11.2017)
- Gener G, Canoui-Poitine F, Revuz JE, Faye O, Poli F, Gabison G, Pouget F, Viallette C, Wolkenstein P, Bastuji-Garin S: Combination therapy with clindamycin and rifampicin for hidradenitis suppurativa: a series of 116 consecutive patients. *Dermatology* 219: 148-154, 2009
- Giesey R, Delost GR, Honaker J, Korman NJ: Metastatic squamous cell carcinoma in a patient treated with adalimumab for hidradenitis suppurativa. *JAAD Case Rep* 3: 489-491, 2017
- Girouard SD, Falk RH, Rennke HG, Merola JF: Hidradenitis suppurativa resulting in systemic amyloid A amyloidosis: a case report and review of the literature. *Dermatol Online J* 18: 2, 2012
- Gisondi P, Girolomoni G: Impact of TNF-alpha antagonists on the quality of life in selected skin diseases. *G Ital Dermatol Venereol* 148: 243-248, 2013
- Grant A, Gonzalez T, Montgomery MO, Cardenas V, Kerdel FA: Infliximab therapy for patients with moderate to severe hidradenitis suppurativa: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial. *J Am Acad Dermatol* 62: 205-217, 2010
- Grönberg A, Zettergren L, Agren MS: Stability of the cathelicidin peptide LL-37 in a non-healing wound environment. *Acta Derm Venereol* 91: 511-515, 2011
- Gupta AK, Studholme C: Adalimumab (Humira) for the treatment of hidradenitis suppurativa. *Skin Therapy Lett* 21: 1-4, 2016
- Halle A, Hornung V, Petzold GC, Stewart CR, Monks BG, Reinheckel T, Fitzgerald KA, Latz E, Moore KJ, Golenbock DT: The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nat Immunol* 9: 857-865, 2008
- Hana A, Bookin D, Henrich C, Gratchev A, Maas-Szabowski N, Goerdts S, Kurzen H: Functional significance of non-neuronal Ach in skin epithelia. *Life Sci* 25: 2214-2220, 2007
- Hana A: Neue Erkenntnisse zur Pathogenese der Acne inversa. *Haut* 18: 158, 2007
- Happle R, König A: A lesson to be learned from Karl Marx: smoking triggers hidradenitis suppurativa. *British Journal of Dermatology* 159: 255-256, 2008
- Hardy J, Selkoe DJ: The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297: 353-356, 2002
- Harrison BJ, Mudge M, Hughes LE: Recurrence after surgical treatment of hidradenitis suppurativa. *Br Med J* 294: 487-489, 1987
- Heckmann M: Erkrankungen der Schweißdrüsen. In: *Dermatologie, Venerologie und Allergologie*. Hrsg: Plewig G, Landthaler M, Burgdorf WHC, Hertl M, Ruzicka T, Braun Falco's, 6. Aufl, Berlin, Heidelberg: Springer, 1230-1231, 2012
- Heilberger P, Galli KH, Kreuzpaintner KH: Pyoderma sinifica fistulans with fatal outcome. *Chirurg* 65: 395-399, 1994
- Hirsch-Kauffmann MS: *Biologie für Mediziner und Naturwissenschaftler*. Stuttgart: Thieme: 345-347, 2004

- Hogan DJ, Light MJ: Successful treatment of hidradenitis suppurativa with acitretin. *J Am Acad Dermatol* 19: 355-356, 1988
- Humphries LS, Kueberuwa E, Beederman M, Gottlieb LJ: Wide excision and healing by secondary intent for the surgical treatment of hidradenitis suppurativa: a single-center experience. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 69: 554-566, 2016
- Hurley H: Axillary hyperhidrosis, apocrine bromhidrosis, hidradenitis suppurativa and familial benign pemphigus: surgical approach. *Dermatologic Surgery*. New York, Dekker: 729-739, 1989
- Ingram JR, Wood M, John B, Butler R, Anstey AV: Absence of pathogenic  $\gamma$ -secretase mutations in a South Wales cohort of familial and sporadic hidradenitis suppurativa (acne inversa). *Br J Dermatol* 168: 874-876, 2013
- Jansen I, Altmeyer P, Plewig G: Acne inversa (alias hidradenitis suppurativa). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 15: 532-540, 2001
- Jansen T, Plewig G: Acne inversa. *Int J Dermatol* 37: 96-100, 1998
- Jansen T, Altmeyer P, Plewig G: Acne inversa (alias hidradenitis suppurativa). *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 15: 532-540, 2002
- Jemec GBE, Wendelboe P: Topical clindamycin versus systemic tetracycline in the treatment of hidradenitis suppurativa. *J Am Acad Dermatol* 39: 971-974, 1998
- Jemec GBE, Heidenheim M, Nielsen NH: Prevalence of hidradenitis suppurativa in Denmark. *Ugeskr Laeger* 160: 847-849, 1998
- Jemec GBE, Thomsen BM, Hansen U: The homogeneity of hidradenitis suppurativa lesions. *APMIS* 105: 378-383, 1997
- Jemec GBE: Hidradenitis suppurativa. *New England Journal of Medicine* 366: 158-164, 2012
- Jeong SH, Park JH, Kim JN, Park YH, Shin SY, Lee YH, Kye YC, Son SW: Up-regulation of TNF- $\alpha$  secretion by cigarette smoke is mediated by Egr-1 in HaCaT human keratinocytes. *Exp Dermatol* 19: 206-212, 2010
- Jiao T, Dong H, Jin L, Wang J: A novel nicastrin mutation in a large chinese family with hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 168: 1141-1143, 2013
- Kamp S, Fiehn AM, Stenderup K, Rosada C, Pakkenberg B, Kemp K, Dam TN, Jemec GB: Hidradenitis suppurativa: a disease of the absent sebaceous gland? Sebaceous gland number and volume are significantly reduced in uninvolved hair follicles from patients with hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 164: 1017-1022, 2011
- Kaur MR, Lewis HM: Hidradenitis suppurativa treated with dapsone: a case series of five patients. *J Dermatolog Treat* 17: 211-213, 2006
- Kawashima K, Fujii T: The lymphocytic cholinergic system and its biological function. *Life Sci* 72: 2101-2109, 2003
- Kelleher RJ, Shen J: Genetics. Gamma-secretase and human disease. *Science* 330: 1055-1056, 2010
- Kierland RR: Unusual pyoderms (hidrosadenitis suppurativa, acne conglobata, dissecting cellulitis of the scalp). *Minn Med* 34: 319-325, 1951
- Kirschke J, Hessam S, Bechara FG: Hidradenitis suppurativa/acne inversa. *Der Hautarzt* 66: 413-422, 2015
- Kim ES, Garnock-Jones KP, Keam SJ: Adalimumab: A Review in hidradenitis suppurativa. *Am J Clin Dermatol* 17: 545-552, 2016
- Kondoh K, Sunadome K, Nishida E: Notch signaling suppresses p38 MAPK activity via induction of MKP-1 in myogenesis. *J Biol Chem* 282: 3058-3065, 2007
- König A, Lehmann C, Rempel R, Happle R: Cigarette smoking as a triggering factor of hidradenitis suppurativa. *Dermatology* 198: 261-264, 1999
- Kraft JN, Searles GE: Hidradenitis suppurativa in 64 female patients: retrospective study comparing oral antibiotics and antiandrogen therapy. *J Cutan Med Surg* 11: 125-131, 2007
- Kromann CB, Ibler KS, Kristiansen VB, Jemec GB: The influence of body weight on the prevalence and severity of hidradenitis suppurativa. *Acta Derm Venereol* 94: 553-557, 2014
- Kurzen H, Wessler I, Kirkpatrick CJ, Kawashima K, Grando SA: The non-cholinergic system of human skin. *Horm Metab Res* 39: 125-135, 2007
- Kurzen H, Hana A, Frongia G, Goerdt S, Gratchev A: The potential role of acetylcholine receptors in acne inversa (HS) pathogenesis. *Experimental Dermatology* 15: 480, 2006

- Kurzen H, Kurokawa I, Jemec GBE, Emtestam L, Sellheyer K, Giamarellos-Bourboulis E, Nagy I, Bechara F, Sartorius K, Lapins J, Krahl D, Altmeyer P, Revuz J, Zouboulis C: What causes hidradenitis suppurativa? *Exp Dermatol* 17: 455-472, 2008
- Kwon SM, Alev C, Lee SH, Asahara T: The molecular basis of Notch signaling: a brief overview, *Adv Exp Med Biol* 727: 1-14, 2012
- Liu Y, Gao M, Lv YM, Yang X, Ren YQ, Jiang T, Zhang X, Guo BR, Li M, Zhang Q, Zhang P, Zhou FS, Chen G, Yin XY, Zuo XB, Sun LD, Zheng XD, Zhang SM, Liu JJ, Zhou Y, Li YR, Wang J, Wang J, Yang HM, Yang S, Li RQ, Zhang XJ: Confirmation by exome sequencing of the pathogenic role of *NCSTN* mutations in acne inversa (hidradenitis suppurativa). *J Invest Dermatol* 131: 1570-1572, 2011
- Makris GM, Poulakaki N, Papanota AM, Kotsifa E, Sergeantanis TN, Psaltopoulou T: Vulvar, perianal and perineal cancer after hidradenitis suppurativa: a systematic review and pooled analysis. *Dermatol Surg* 43: 107-115, 2017
- Marzano AV, Trevisan V, Gattorno M, Checcherini I, De Simone C, Crosti C: Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum, acne, and hidradenitis suppurativa (PAPASH): a new autoinflammatory syndrome associated with a novel mutation of the *PSTPIP1* gene. *JAMA Dermatol* 149: 762-764, 2013
- Matusiak L, Bieniek A, Szepietowski JC: Increased serum tumour necrosis factor-alpha in hidradenitis suppurativa patients: is there a basis for treatment with anti-tumour necrosis factor-alpha agents? *Acta Derm Venereol* 89: 601-603, 2009
- Mebazaa A, Ben Hadid R, Cheikh Rouhou R, Trojjet S, El Euch D, Mokni M, Zitouna M, Ben Osman A: Hidradenitis suppurativa: a disease with male predominance in Tunisia. *Acta Dermatovenereol Alp Panonica Adriat* 18: 165-172, 2009
- Mekkes J: Weekly adalimumab significantly reduces the number of abscesses and inflammatory nodules in patients with moderate to severe hidradenitis suppurativa. *Evid Based Med* 22: 34, 2017
- Melnik BC, Plewig G: Impaired Notch signalling: the unifying mechanism explaining the pathogenesis of hidradenitis suppurativa (acne inversa). *Br J Dermatol* 168: 876-878, 2013
- Melnik BC, Plewig G: Impaired Notch-MKP-1 signalling in hidradenitis suppurativa: an approach to pathogenesis by evidence from translational biology. *Exp Dermatol* 22: 172-177, 2013
- Mendonça CO, Griffiths CEM: Clindamycin and rifampicin combination therapy for hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 154: 977-978, 2006
- Miller I, Lynggaard CD, Lophaven S, Zachariae C, Dufour DN, Jemec GB: A double-blind placebo-controlled randomized trial of adalimumab in the treatment of hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 165: 391-398, 2011
- Miskinyte S, Nassif A, Merabte F, Ungeheuer MN, Join-Lambert O, Jais JP, Hovnanian A: Nicastrin mutations in french families with hidradenitis suppurativa. *J Invest Dermatol* 132: 1728-1730, 2012.
- Montes-Romero JA, Callejas-Rubio JA, Sanchez-Cano D, Gonzalez-Martinez FJ, Navas-Parejo A, Ortego-Centeno N: Amyloidosis secondary to hidradenitis suppurativa. Exceptional response to infliximab. *Eur J Intern Med* 19: e32-e33, 2008
- Mortaz E, Adcock IM, Ito K, Kraneveld AD, Nijkamp FP, Folkerts G: Cigarette smoke induces CXCL8 production by human neutrophils via activation of TLR9 receptor. *Eur Respir J* 36: 1143-1154, 2010
- Mortimer PS, Dawber RP, Gales MA, Moore RA: A double-blind controlled cross-over trial of cyproterone acetate in females with hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 115: 263-268, 1986
- Moschella SL: Hidradenitis suppurativa. Complications resulting in death. *JAMA* 198: 201-203, 1966
- Mühlstädt M, Kulichova D, Kunte C: Perioperative Antibiotikaprophylaxe in der Dermatochirurgie. *Der Hautarzt* 60: 546-549, 2009
- Mühlstädt M, Bechara FG, Kunte C: Acne inversa (hidradenitis suppurativa): from diagnosis to therapy. *Hautarzt* 64: 55-62, 2013
- Müller-Myhsok B: Molekulargenetische Grundlagen der molekularen Medizin unter Berücksichtigung der genetischen Epidemiologie. In: *Molekular- und Zellbiologische Grundlagen*. Hrsg: Ganten D, Ruckpaul K, Berlin, Heidelberg: Springer, 102-108, 1997
- Naasan H, Affleck A: Atypical hidradenitis suppurativa. *Clin Exp Dermatol* 40: 891-893, 2015
- Niimura M, Isoo N, Takasugi N, Tsuruoka M, Ui-Tei K, Saigo K, Morohashi Y, Tomita T, Iwatsubo T: Aph-1 contributes to the stabilization and trafficking of the gamma-secretase complex through mechanisms involving intermolecular and intramolecular interactions. *J Biol Chem* 280: 12967-12975, 2005
- Nikolakis G, Liakou AI, Bonovas S, Seltmann H, Bonitsis N, Join-Lambert O, Wild T, Karagiannidis I, Zolke-Fischer S, Langner K, Zouboulis CC: Bacterial colonization in hidradenitis suppurativa/acne inversa: a cross-sectional study of 50 patients and review of the literature. *Acta Derm Venereol* 97: 493-498, 2017

- Nishimura S, Manabe I, Nagai R: Adipose tissue inflammation in obesity and metabolic syndrome. *Discov Med* 8: 55-60, 2009
- Nomura Y, Nomura T, Suzuki S, Takeda M, Mizuno O, Ohguchi Y, Abe R, Murata Y, Shimizu H: A novel *NCSTN* mutation alone may be insufficient for the development of familial hidradenitis suppurativa. *J Dermatol Sci* 74: 180-182, 2014
- Nuño-González A, Dehesa L, Ricotti C, Kerdel F: Flexural or inverse psoriasis in a patient with hidradenitis suppurativa receiving treatment with infliximab. *Actas Dermosifiliogr* 103: 936-937, 2012
- Ottewälder B: DNA-Sequencing: Automation und Probenvorbereitung. *Laborwelt* 7: 21-27, 2006
- Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K: Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 11: 85-97, 2011
- Pan Y, Lin MH, Tian X, Cheng HT, Gridley T, Shen J, Kopan R: Gamma-secretase functions through notch signaling to maintain skin appendages but is not required for their patterning or initial morphogenesis. *Dev Cell* 7: 731-743, 2004
- Pavia CS, Pierre A, Nowakowski J: Antimicrobial activity of nicotine against a spectrum of bacterial and fungal pathogens. *J Med Microbiol* 49: 675-676, 2000
- Pena ZG, Sivamani RK, Konia TH, Eisen DB: Squamous cell carcinoma in the setting of chronic hidradenitis suppurativa; report of a patient and update of the literature. *Dermatol Online J* 21, 2015
- Piccinini AM, Midwood KS: DAMPening Inflammation by Modulating TLR Signalling. *Mediators of Inflammation*, 2010
- Pink AE, Simpson MA, Brice GW, Smith CH, Desai N, Mortimer PS, Barker JN, Trembath RC: *PSENEN* and *NCSTN* mutations in familial hidradenitis suppurativa (acne inversa). *J Invest Dermatol* 131: 1568-1570, 2011
- Pink AE, Simpson MA, Desai N, Dafou D, Hills A, Mortimer P, Smith CH, Trembath RC, Barker JN: Mutations in the  $\gamma$ -secretase genes *NCSTN*, *PSENEN*, and *PSEN1* underlie rare forms of hidradenitis suppurativa (acne inversa). *J Invest Dermatol* 132: 2459-2461, 2012
- Pink AE, Simpson MA, Desai N, Trembath RC, Barker JNW:  $\gamma$ -Secretase mutations in hidradenitis suppurativa: new insights into disease pathogenesis. *J Invest Dermatol* 133: 601-607, 2013
- Plewig G, Steger M: Acne inversa (alias acne triad, acne tetrad or hidradenitis suppurativa). *Acne and related disorders*. Dunitz, London, 345-357, 1989
- Plewig G, Kligman AM: Acne inversa. In: *Acne and rosacea*, 2.Auflage, Berlin: Springer, 284-289, 1993
- Plewig G, Kligman AM: *Acne and rosacea*. 3rd, completely revised and enlarged edition with contributions by T.Jansen, Berlin: Springer, 311, 2000
- Plewig G: Acne inversa, Acne keloidalis nuchae, abszedierende Follikulitis der Kopfhaut: Ein verbindendes Konzept. In: *Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie*. Hrsgs. Plewig G, Prinz J, Berlin: Springer: 192-203, 2003
- Poli F, Wolkenstein P, Revuz J: Back and face involvement in hidradenitis suppurativa. *Dermatology* 221: 137-141, 2010
- Randhawa HK, Hamilton J, Pope E: Finasteride for the treatment of hidradenitis suppurativa in children and adolescents. *JAMA Dermatol*: 1-4, 2013
- Revuz J: Modifications to the Sartorius score and instructions for evaluating the severity of suppurative hidradenitis. *Ann Dermatol Venereol*: 173-180, 2007
- Revuz JE, Canoui-Poitine F, Wolkenstein P, Viallette C, Gabison G, Pouget F, Poli F, Faye O, Roujeau J, Bonnelye G, Grob J, Bastuji-Garin S: Prevalence and factors associated with hidradenitis suppurativa: results from two case-control studies. *J Am Acad Dermatol* 59: 596-601, 2008
- Ring HC, Thorsen J, Saunte DM, Lilje B, Bay L, Riis PT, Larsen N, Andersen LO, Nielsen HV, Miller IM, Bjarnsholt T, Fuursted K, Jemec GB: The follicular skin microbiome in patients with hidradenitis suppurativa and healthy controls. *JAMA Dermatol* 153: 897-905, 2017
- Ritz JP, Runkel N, Haier J, Buhr HJ: Extent of surgery and recurrence rate of hidradenitis suppurativa. *Int J Colorectal Dis* 13: 164-168, 1998
- Rompel R, Petres J: Long-term results of wide surgical excision in 106 patients with hidradenitis suppurativa. *Dermatol Surg* 26: 638-643, 2000
- Sabat R, Chanwangpong A, Schneider-Burrus S, Metternich D, Kokolakis G, Kurek A, Philipp S, Uribe D, Wolk K, Sterry W: Increased prevalence of metabolic syndrome in patients with acne inversa. *PLoS One* 7: e31810, 2012
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 5463-5467, 1977

- Sartorius K, Killasli H, Oprica C, Sullivan A, Lapins J: Bacteriology of hidradenitis suppurativa exacerbations and deep tissue cultures obtained during carbon dioxide laser treatment. *Br J Dermatol* 166: 879-883, 2012
- Sartorius K, Emtestam L, Jemec GBE, Lapins J: Objective scoring of hidradenitis suppurativa reflecting the role of tobacco smoking and obesity. *Br J Dermatol* 161: 831-839, 2009
- Sato T, Diehl TS, Narayanan S, Funamoto S, Ihara Y, De Strooper B, Steiner H, Haass C, Wolfe MS: Active gamma-secretase complexes contain only one of each component. *J Biol Chem* 282: 33985-33993, 2007
- Sawers RS, Randall VA, Ebling FJ: Control of hidradenitis suppurativa in women using combined antiandrogen (cyproterone acetate) and oestrogen therapy. *Br J Dermatol* 115: 269-274, 1986
- Scheinfeld N: A case of a patient with stage III familial hidradenitis suppurativa treated with 3 courses of infliximab and died of metastatic squamous cell carcinoma. *Dermatol Online J* 20, 2014
- Scheinfeld N: Hidradenitis suppurativa in prepubescent and pubescent children. *Clin Dermatol* 33: 316-319, 2015
- Scheinfeld N: Hidradenitis suppurativa: a practical review of possible medical treatments based on over 350 hidradenitis patients. *Dermatol Online J* 19: 1, 2013
- Selkoe D, Kopan R: Notch and Presenilin: regulated intramembrane proteolysis links development and degeneration. *Annu Rev Neurosci* 26: 565-597, 2003
- Sellheyer K, Krah D: What causes acne inversa (or hidradenitis suppurativa)? The debate continues. *J Cutan Pathol* 35: 795-797, 2008
- Shah S, Lee SF, Tabuchi K, Hao YH, Yu C, LaPlant Q, Ball H, Dann CE 3rd, Südhof T, Yu G: Nicastrin functions as a gamma-secretase-substrate receptor. *Cell* 122: 435-447, 2005
- Shelley W, Cahn MM: The pathogenesis of hidradenitis suppurativa in man: experimental and histologic observations. *A.M.A. Archives of Dermatology* 72: 562-565, 1955
- Shen J, Kelleher RJ: The presenilin hypothesis of Alzheimer's disease: evidence for a loss-of-function pathogenic mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 403-409, 2007
- Shoham NG, Centola M, Mansfield E, Hull KM, Wood G, Wise CA, Kastner DL: Pyrin binds the *PSTPIP1*/CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in the same pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 13501-13506, 2003
- Short KA, Kalu G, Mortimer PS, Higgins EM: Vulval squamous cell carcinoma arising in chronic hidradenitis suppurativa. *Clin Exp Dermatol* 30: 481-483, 2005
- Song W, Nadeau P, Yuan M, Yang X, Shen J, Yankner BA: Proteolytic release and nuclear translocation of Notch-1 are induced by presenilin-1 and impaired by pathogenic presenilin-1 mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 6959-6963, 1999
- Soria A, Canoui-Poitaine F, Wolkenstein P, Poli F, Gabison G, Pouget F, Viallette C, Revuz J: Absence of efficacy of oral isotretinoin in hidradenitis suppurativa: a retrospective study based on patients' outcome assessment. *Dermatology* 218: 134-135, 2009
- Sotiriou E, Goussi C, Lallas A, Chovarda E, Apalla Z, Lazaridou E, Ioannides D: A prospective open-label clinical trial of efficacy of the every week administration of adalimumab in the treatment of hidradenitis suppurativa. *J Drugs Dermatol* 11: 15-20, 2012
- South AP, Purdie KJ, Watt SA, Haldenby S, den Breems NY, Dimon M, Arron ST, Kluk MJ, Aster JC, McHugh A, Xue DJ, Dayal JH, Robinson KS, Rizvi SM, Proby CM, Harwood CA, Leigh IM: NOTCH1 mutations occur early during cutaneous squamous cell carcinogenesis. *J Invest Dermatol* 134: 2630-2638, 2014
- Stellon AJ, Wakeling M: Hidradenitis suppurativa associated with use of oral contraceptives. *BMJ* 298: 28-29, 1989
- Talmant JC, Bruant-Rodier C, Nunziata AC, Rodier JF, Wilk A: Squamous cell carcinoma arising in Verneuil's disease: two cases and literature review. *Ann Chir Plast Esthet* 51: 82-86, 2006
- Theut Riis P, Egeberg A, Gislason GH, Jemec GB: Hidradenitis suppurativa patients have no increased risk of Alzheimer's disease. *Br J Dermatol* 17: Epub, 2016
- Tilg H, Moschen AR: Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med* 14: 222-231, 2008
- Tilley AE, Harvey B, Heguy A, Hackett NR, Wang R, O'Connor TP, Timothy P, Crystal RG: Down-regulation of the notch pathway in human airway epithelium in association with smoking and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 179: 457-466, 2009

- Titze J, Schneider M, Krause H, Jacobi J, Stolte M, Linke RP, Rupperecht HD: Diarrhea, nephrotic syndrome and hidradenitis suppurativa: an unusual case. *Nephrol Dial Transplant* 18: 192-194, 2003
- Torii K, Saito C, Furuhashi T, Nishioka A, Shintani Y, Kawashima K, Kato H, Morita A: Tobacco smoke is related to Th17 generation with clinical implications for psoriasis patients. *Exp Dermatol* 20: 371-373, 2011
- Tsuji G, Takahara M, Uchi H, Matsuda T, Chiba T, Takeuchi S, Yasukawa F, Moroi Y, Furue M: Identification of ketoconazole as an AhR-Nrf2 activator in cultured human keratinocytes: the basis of its anti-inflammatory effect. *J Invest Dermatol* 132: 59-68, 2012
- van der Zee HH, Prens EP: Failure of anti-interleukin-1 therapy in severe hidradenitis suppurativa: a case report. *Dermatology* 226: 97-100, 2013
- van der Zee HH, Prens EP, Boer J: Deroofing: a tissue-saving surgical technique for the treatment of mild to moderate hidradenitis suppurativa lesions. *J Am Acad Dermatol* 63: 475-480, 2010
- van der Zee HH, Laman JD, Boer J, Prens EP: Hidradenitis suppurativa: viewpoint on clinical phenotyping, pathogenesis and novel treatments. *Exp Dermatol* 21: 735-739, 2012
- van der Zee HH, Laman JD, de Ruiter L, Dik WA, Prens EP: Adalimumab (antitumour necrosis factor- $\alpha$ ) treatment of hidradenitis suppurativa ameliorates skin inflammation: an in situ and ex vivo study. *Br J Dermatol* 166: 298-305, 2012
- van der Zee HH, de Ruiter L, van den Broecke DG, Dik WA, Laman JD, Prens EP: Elevated levels of tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-10 in hidradenitis suppurativa skin: a rationale for targeting TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  Br J Dermatol 164: 1292-1298, 2011
- van Rappard DC, Limpens J, Mekkes JR: The off-label treatment of severe hidradenitis suppurativa with TNF- $\alpha$  inhibitors: a systematic review. *J Dermatolog Treat* 24: 392-404, 2012
- van Rappard DC, Mooij JE, Mekkes JR: Mild to moderate hidradenitis suppurativa treated with local excision and primary closure. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 26: 898-902, 2012
- Vazquez BG, Alikhan A, Weaver A, Wetter D, Davis M: Incidence of hidradenitis suppurativa and associated factors: a population-based study of Olmsted County, Minnesota. *J Invest Dermatol* 133: 97-103, 2013
- Velpeau A: Dictionnaire de Medicine. Un repertoire des sciences medicales sons le rapport. Theorique et Pratique. 2nd ed. Paris. France, 91, 1839
- Verdelli A, Antiga E, Bonciani D, Bonciolini V, Volpi W, Caproni M: A fatal case of hidradenitis suppurativa associated with sepsis and squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol* 55: 52-53, 2016
- Verneuil A: De l'hidrosadénite phlegmoneuse et des abcès sudoripares. *Arch Gen Med* 115: 327-337, 1864
- von der Werth JM, Jemec GBE: Morbidity in patients with hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 144: 809-813, 2001
- von der Werth JM, Williams HC: The natural history of hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 14: 389-392, 2000
- von der Werth JM, Williams HC, Raeburn JA: The clinical genetics of hidradenitis suppurativa revisited. *Br J Dermatol* 142: 947-953, 2000
- von Laffert M, Helmbold P, Wohlrab J, Fiedler E, Stadie V, Marsch WC: Hidradenitis suppurativa (acne inversa): early inflammatory events at terminal follicles and at interfollicular epidermis. *Exp Dermatol* 19: 533-537, 2010
- von Laffert M, Stadie V, Wohlrab J, Marsch WC: Hidradenitis suppurativa/acne inversa: bilocated epithelial hyperplasia with very different sequelae. *Br J Dermatol* 164: 367-371, 2011
- Wang B, Yang W, Wen W, Sun J, Su B, Liu B, Ma D, Lv D, Wen Y, Qu T, Chen M, Sun M, Shen Y, Zhang X: Gamma-secretase gene mutations in familial acne inversa. *Science* 330: 1065, 2010
- Wang X, Liu Y: Regulation of innate immune response by MAP kinase phosphatase-1. *Cell Signal* 19: 1372-1382, 2007
- Weber S, Niessen MT, Lüllmann-Rauch R, Schmitz A, Schwanbeck R, Blobel CP, Jorissen E, de Strooper B, Niessen CM, Saftig P: The disintegrin/metalloproteinase Adam10 is essential for epidermal integrity and Notch-mediated signaling. *Development* 138: 495-505, 2011
- Wieland CW, Vogl T, Ordelman A, Vloedgraven HGM, Verwoolde LHA, Rensen JM, Roth J, Boer J, Hessels J: Myeloid marker S100A8/A9 and lymphocytmarker soluble interleukin 2 receptor: Biomarkers of hidradenitis suppurativa disease activity? *Br J Dermatol* 168: 1252-1258, 2013
- Williams ST, Busby RC, Demuth RJ, Nelson H: Perineal hidradenitis suppurativa: presentation of two unusual complications and a review. *Ann Plast Surg* 26: 456-462, 1991



- Wiltz O, Schoetz DJ Jr, Murray JJ, Roberts PL, Collier JA, Veidenheimer MC: Perianal hidradenitis suppurativa. The Lahey Clinic experience. *Dis Colon Rectum* 33: 731-734, 1990
- Wise CA, Gillum JD, Seidman CE, Lindor NM, Veile R, Bashardes S, Lovett M: Mutations in CD2BP1 disrupt binding to PTP PEST and are responsible for PAPA syndrome, an autoinflammatory disorder. *Hum Mol Genet* 11: 961-969, 2002
- Wolfe MS: gamma-Secretase inhibitors as molecular probes of presenilin function. *J Mol Neurosci* 17: 199-204, 2001
- Wolk K, Warszawska K, Hoeflich C, Witte E, Schneider-Burrus S, Witte K, Kunz S, Buss A, Roewert HJ, Krause M, Lukowsky A, Volk HD, Sterry W, Sabat R: Deficiency of IL-22 contributes to a chronic inflammatory disease: pathogenetic mechanisms in acne inversa. *J Immunol* 186: 1228-1239, 2011
- Wollina U, Koch A, Heining B, Kittner T, Nowak A: Acne inversa (hidradenitis suppurativa): a review with a focus on pathogenesis and treatment. *Indian Dermatol Online J* 4: 2-11, 2013
- Xiao X, He Y, Li C, Zhang X, Xu H, Wang B: Nicastrin mutations in familial acne inversa impact keratinocyte proliferation and differentiation through the Notch and phosphoinositide 3-kinase/AKT signalling pathways. *Br J Dermatol* 174: 522-532, 2016
- Yamauchi PS, Mau N: Hidradenitis suppurativa managed with adalimumab. *J Drugs Dermatol* 8: 181-183, 2009
- Yang JQ, Wu XJ, Dou TT, Jiao T, Chen XB, Min M, Cai SQ, Zheng M: Haploinsufficiency caused by a nonsense mutation in *NCSTN* underlying hidradenitis suppurativa in a Chinese family. *Clin Exp Dermatol* 40: 916-919, 2015
- Yazdanyar S, Boer J, Ingvarsson G, Szepietowski JC, Jemec GB: Dapsone therapy for hidradenitis suppurativa: a series of 24 patients. *Dermatology* 222: 342-346, 2011
- Yu CC, Cook MG: Hidradenitis suppurativa: a disease of follicular epithelium, rather than apocrine glands. *Br J Dermatol* 122: 763-769, 1990
- Zhang C, Wang L, Chen L, Ren W, Mei A, Chen X, Deng Y: Two novel mutations of the *NCSTN* gene in Chinese familial acne inverse. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 27: 1571-1574, 2013
- Zhang X, Sisodia SS: Acne inversa caused by missense mutations in *NCSTN* is not fully compatible with impairments in Notch signaling. *J Invest Dermatol* 135: 618-620, 2015
- Zhou C, Wen GD, Soe LM, Xu HJ, Du J, Zhang JZ: Novel mutations in *PSENEN* gene in two chinese acne inversa families manifested as familial multiple comedones and dowling-degos disease. *Chin Med J (Engl)* 129: 2834-2839, 2016
- Zouboulis CC: Adalimumab for the treatment of hidradenitis suppurativa/acne inversa. *Expert Rev Clin Immunol* 10 Epub: 1015-26, 2016
- Zouboulis CC, Bechara F, Fritz K, Kurzen H, Liakou A, Marsch W, Milling A, Nast A, Podda M, Taube K, Wienert V, Winkler T: S1-Leitlinie zur Therapie der Hidradenitis suppurativa/Acne inversa. *J Dtsch Dermatol Ges* 10: 1-56, 2012  
[http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/013-012l\\_S1\\_Acne\\_inversa\\_Hidradenitis\\_suppurativa\\_2012-12.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/013-012l_S1_Acne_inversa_Hidradenitis_suppurativa_2012-12.pdf) (zuletzt aufgerufen am 28.11.2017)

## 11 Anhang: Fragebogen

Prof. Dr. med. Kathrin Giehl

Tel.: +49-89-4400-56391

Fax: +49-89-4400-56202

kathrin.giehl@med.uni-muenchen.de

www.klinikum.uni-muenchen.de

Postanschrift:

Frauenlobstraße 9 - 11

D-80337 München

### Acne inversa

auch genannt: Hidradenitis suppurativa

Patientenetikett

Hausarzt: \_\_\_\_\_

Facharzt: \_\_\_\_\_

Telefon: \_\_\_\_\_

Mobil: \_\_\_\_\_

Email: \_\_\_\_\_

Name: .....

Geburtsdatum: .....

Geschlecht: weiblich: ☐ männlich: ☐

Nationalität: .....

Ursprungsland: .....

Familienstand: .....

Haben Sie Kinder?:

Wenn ja, Anzahl Mädchen:..... Anzahl Jungen:.....

Schulabschluss: .....

Beruf: .....

Größe: .....cm

Gewicht: .....kg

## Anhang: Fragebogen

1. In welchem Alter traten die ersten Anzeichen Ihrer Acne inversa Erkrankung auf?

.....

2. In welchem Alter wurde Acne inversa bei Ihnen erstmals diagnostiziert?

.....

3. Wer hat bei Ihnen die Diagnose gestellt? (wenn möglich: Name des Arzt und Institut/Praxis)

.....

4. Wie lange verlief die Erkrankungsdauer?

.....

5. Hatten Sie auch Akne? (hier gemeint: Pubertätsakne)

ja: ☐                      nein: ☐

6. Sind andere Familienmitglieder ebenfalls von Acne inversa betroffen?

ja: ☐                      nein: ☐                      weiß nicht: ☐

Wenn ja, wer? (Geschwister, Kinder, Onkel.....).....

.....

7. Gab/Gibt es in Ihrer Verwandtschaft Fälle von Akne?

Wenn ja, wer? (Geschwister, Kinder, Onkel.....).....

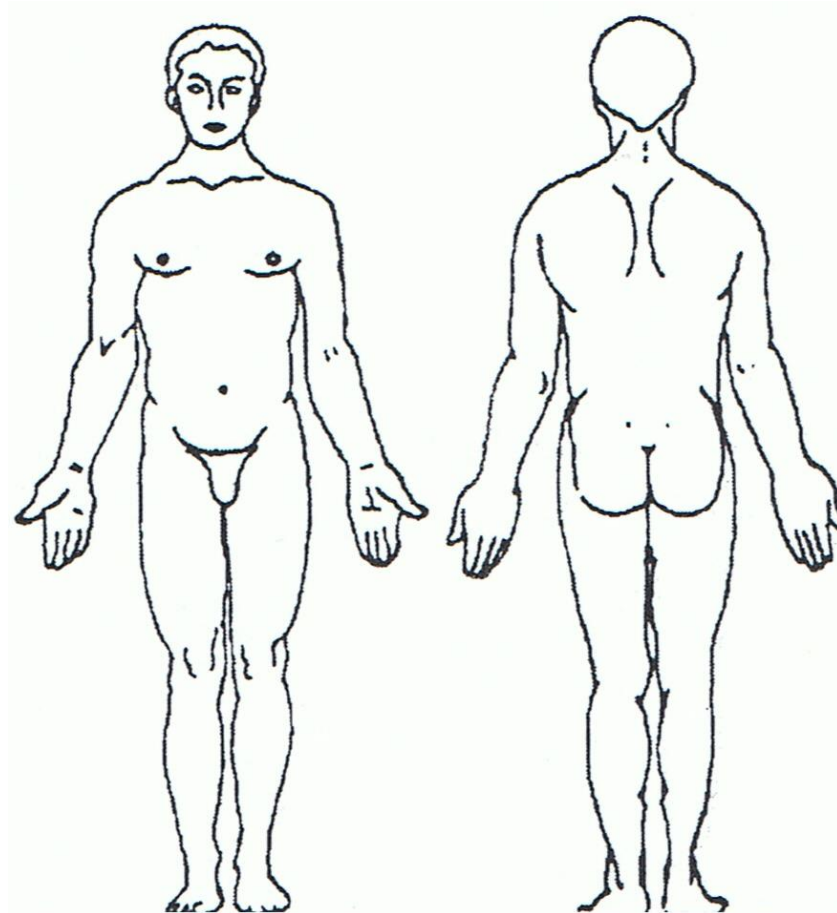
.....

8. Welche Körperstellen sind/waren bei Ihnen durch Acne inversa betroffen?

Bitte ankreuzen.

	Stark rechts	Stark links	Moderat rechts	Moderat links	Leicht rechts	Leicht links	Nicht betroffen
Achseln							
Leiste							
Schritt							
Gesäß/Steißbein							
Brust							
Rücken							
Andere Stellen (bitte unten eintragen)							
.....							

Bitte betroffene Körperstellen umkreisen:



9. Leiden Sie unter sonstigen Hauterkrankungen? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, welche?.....

.....

10. Gibt es in Ihrer Familie sonstige Hauterkrankungen? ja: ☐ nein: ☐ weiß nicht: ☐

Wenn ja, wer und welche Erkrankung?.....

.....

11. Rauchen Sie/ Haben Sie geraucht? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, wie viele Zigaretten pro Tag? .....Zigaretten

Seit wie vielen Jahren? .....Jahre

## Anhang: Fragebogen

---

12. Trinken Sie Alkohol? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, wie viel Liter pro Woche? .....

13. Ist bei Ihnen eine Therapie von Acne inversa erfolgt? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, Art der Therapie?.....

.....

14. Hat die Therapie zu einer Verbesserung des Krankheitsbildes von Acne inversa geführt?

vollständige Ausheilung ☐ starke Verbesserung ☐ leichte Verbesserung ☐ keine Verbesserung ☐

15. Gab es bei Ihnen sonstige Behandlungen? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, welche?.....

.....

16. Wurden Sie bereits einmal operiert? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, Art der OP?.....

Im Falle einer Acne inversa OP: Die OP-Wunde wurde ☐ geschlossen ☐ offen gelassen (offen verheilt)  
☐ weiß nicht

17. Gibt es bekannte Vorerkrankungen bei Ihnen (Bluthochdruck, **Diabetes**, Niereninsuffizienz, Gefäßerkrankungen, HIV, Hepatitis, Schlaganfall...)? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, welche?.....

.....

18. Gibt es in Ihrer Verwandtschaft bekannte Erkrankungen (**Alzheimer**, Bluthochdruck, **Diabetes**, Niereninsuffizienz, Gefäßerkrankungen, HIV, Hepatitis, Schlaganfall)? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, wer und welche?.....

19. Sind noch andere Familienmitglieder an dieser oder einer anderen Erbkrankheit erkrankt? Kommen bestimmte Erkrankungen (Krebs, Herzinfarkt...) gehäuft in der Familie vor?

**Stammbaum**

20. Leiden Sie an einer Sehstörung oder Erkrankung der Augen? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, um welche Art von Sehstörung/Erkrankung handelt es sich?.....

.....

21. Leiden Sie unter Schwerhörigkeit oder Erkrankung der Ohren? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, welche Art?.....

22. Leiden Sie unter Arthritis? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, seit wann?.....

23. Leiden Sie unter Synovitis?(Gelenkkapselentzündung) ja: ☐ nein: ☐

24. Leiden Sie unter Haarausfall? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, seit wann?.....

25. Haben Sie vermehrte Gesichts- und Körperbehaarung? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, an welchen Stellen?.....

26. Leiden Sie unter einer Knochenerkrankung? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, welche?.....

27. Haben Sie bei sich Veränderungen/Deformitäten der Fuß-/Fingernägel festgestellt? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, welche Veränderungen?.....

28. Habe Sie Zahnprobleme/ Zahnfehlbildungen/nicht angelegte Zähne? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, bitte beschreiben.....

29. Haben/Hatten Sie eine Lippen-Kiefer-Gaumenspalte oder eine Lippenkerbe? ja: ☐ nein: ☐

## Anhang: Fragebogen

30. Leiden/Litten Sie unter Hormonschwankungen? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, bitte genauere Angaben?.....

31. Haben/Hatten Sie Magen-/Darmprobleme? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, welcher Art?.....

32. Leiden Sie unter einer Störung des Menstruationszyklus? ja: ☐ nein: ☐

33. Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, welche?.....

.....

34. Sind Allergien bei Ihnen bekannt? ja: ☐ nein: ☐ unbekannt: ☐

Wenn ja, welche?.....

.....

35. Leiden Sie unter Stress? ja: ☐ nein: ☐

Bitte Stresslevel bei/kurz vor akutem Krankheitsverlauf 1-10 angeben: (10 höchste Stressbelastung)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

36. Schwitzen Sie stark und häufig? ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, wo?.....

37. Haben Sie Einschränkungen aufgrund Acne inversa? (psychische Belastung, Schmerzen...)

ja: ☐ nein: ☐

Wenn ja, bitte genauere Angaben:.....

.....

.....

38. Ernähren Sie sich seit Ihrer Erkrankung entzündungsarm?(wenig Fleisch, wenig Margarine/Pflanzenöle, viel Fisch, viel Gemüse...)

ja: ☐ nein: ☐

39. Ich habe mich schon vor der Erkrankung entzündungsarm ernährt.

ja: ☐ nein: ☐

## Anhang: Fragebogen

40. Wenn ja, hat die Umstellung auf eine entzündungsarme Nahrung den Schweregrad Ihrer Acne inversa Erkrankung verbessert?

ja: ☐                      nein: ☐

41. Tragen Sie häufig enge Kleidung?

ja: ☐                      nein: ☐

42. Sitzen Sie häufig auf Sitzen (z.B. Kraftfahrzeug) mit angeschalteter Sitzheizung?

ja: ☐                      nein: ☐

Wenn ja, wie oft? .....Stunden in der Woche

43. Wurde bei Ihnen eine der folgenden Syndrome/Erkrankungen diagnostiziert?

PAPA-Syndrom <input type="checkbox"/>	Morbus Crohn <input type="checkbox"/>	Pachyonychia congenita <input type="checkbox"/>
SAHA-Syndrom <input type="checkbox"/>	Colitis ulcerosa <input type="checkbox"/>	Morbus DowlingDegos <input type="checkbox"/>
Apert-Syndrom <input type="checkbox"/>	SAPHO-Syndrom <input type="checkbox"/>	Hirsutismus <input type="checkbox"/>
Androgenitales Syndrom <input type="checkbox"/>	Morbus Adamantiades-Behcet <input type="checkbox"/>	Adenokarzinom <input type="checkbox"/>
Polyzystisches Ovarialsyndrom <input type="checkbox"/>	Pyoderma gangraenosum <input type="checkbox"/>	Plattenepithelkarzinom <input type="checkbox"/>

44. Diagnostik

Welche der folgenden Untersuchungen wurden bei Ihnen bereits durchgeführt? Wann? Bitte legen Sie entsprechende Befunde, wenn möglich, in Kopie anbei!

1. Blutuntersuchung	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>	unbekannt <input type="checkbox"/>
2. Urinuntersuchung	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>	unbekannt <input type="checkbox"/>
10. Molekulargenetische Untersuchungen	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>	unbekannt <input type="checkbox"/>
11. Wenn ja, welche Syndrome wurden untersucht?			

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

36. Bei Ärzten welcher Fachrichtungen werden Sie regelmäßig untersucht?

Hausarzt/Internist	<input type="checkbox"/>	Kardiologie	<input type="checkbox"/>
Dermatologe	<input type="checkbox"/>	Zahnarzt/Kieferorthopäde	<input type="checkbox"/>
Neurologe	<input type="checkbox"/>		



Vielen Dank für Ihre Mitarbeit! Bei Fragen, Anmerkungen, oder Hinweisen wenden Sie sich gerne jeder Zeit an die Mitarbeiter des Zentrums für seltene Hauterkrankungen: -----

Anmerkungen (Hurley Grad, etc):

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Photo dokumentiert? ja ☐                      nein ☐

Blutabnahme?                      ja ☐                      nein ☐

Überweisung an:

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

To Do:

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Wiedervorstellung in:

.....  
.....  
.....

## 12 Danksagung

Abschließend möchte ich mich gerne bei denjenigen bedanken, die mich beim Zustandekommen dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt insbesondere meiner Betreuerin Professor Dr. med. Kathrin Giehl, der Leiterin des interdisziplinären Zentrums für seltene und genetische Hautkrankheiten an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie. Sie hat die Grundlage für die Realisierung dieser Dissertation gelegt, gemeinsam mit mir die Fragestellung formuliert und mich währenddessen vorbildlich begleitet.

Gerne bedanke ich mich auch bei meinem Mitbetreuer Professor Dr. med. Dr. h. c. mult. Gerd Plewig, dem ehemaligen Direktor der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians-Universität München. Er hat mir mit seinem umfangreichen Fachwissen wichtige Fragen beantworten und wertvolle Anregungen zur Umsetzung dieser Dissertation geben können.

Für die Vermittlung zahlreicher Patienten im Rahmen dieser Studie geht ein großer Dank an Professor Dr. med. Bodo Melnik.

Einen weiteren Dank möchte ich Professor Dr. med. Thomas Meitinger aussprechen. Als Direktor des Instituts für Humangenetik am Helmholtz Zentrum München und als Leiter des Instituts für Humangenetik am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München ermöglichte er die molekulargenetische Untersuchung. Die Durchführung der Analysen geschah im Helmholtz Zentrum München unter der Leitung von Dr. rer. nat. Gertrud Eckstein, die mich darüber hinaus als Mitbetreuerin auch fachlich sehr unterstützte. Regina Feldmann hat mich bei der Ausführung der Sanger-Sequenzierung äußerst gut betreut und hierfür möchte ich ihr ausdrücklich danken. Bei Matias Wagner und Dr. Peter Lichtner vom Institut für Humangenetik möchte ich mich für die Durchführung der Kopplungsanalyse und Bereitsstellung der Daten sehr bedanken.

Außerdem möchte ich allen danken, die mich während der Promotionszeit unterstützt und motiviert haben: meiner Familie und Regina.